

Influencia de la fertilización con nitrógeno y azufre sobre la  
composición del gluten y la calidad industrial en genotipos  
argentinos de trigo pan (*Triticum aestivum* L.)

*Tesis para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área  
Producción Vegetal*

**Agustín Francisco Arata**  
Ingeniero Agrónomo - FAUBA - 2009

Lugar de trabajo: Cátedra de Cereales y Oleaginosas - FA - UNCPBA



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano  
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires

## COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

**Deborah Paola Rondanini**

Ingeniera Agrónoma (FAUBA)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (FAUBA)

Co-director de tesis

**Gabriela Edith Tranquilli**

Ingeniera Agrónomo (FAUBA)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (FAUBA)

Consejero de Estudios

**Silvia Elena Lerner**

Ingeniera Agrónoma (FAUBA)

## JURADO DE TESIS

JURADO

**Carla Caputo**

Licenciada en Ciencias Biológicas (FCEyN-UBA)

Doctora en Ciencias Biológicas (FCEyN-UBA)

JURADO

**Pablo Prystupa**

Ingeniero Agrónomo (FAUBA)

Magíster en Producción Vegetal (FAUBA)

JURADO

**César G. López**

Ingeniero Agrónomo (UNLZ)

Magíster en Mejoramiento Genético Vegetal (UNR)

Doctor of Philosophy (Oregon State University)

Fecha de defensa de la tesis: 10 de julio de 2017

**Dedicatoria**

*A mi gran compañera en la vida, Yani (La Mona)*

*A mis hermanos de fierro, Luli, Chalo y Benja*

*A mi viejo (Gusti), a mi vieja (Ale) y a mi madrina Poliya*

## Agradecimientos

*A Silvia por su confianza, su apoyo y sobre todo por darme la oportunidad y el lugar para trabajar en esto que tanto me gusta. A Deborah y Gabriela por aceptar acompañarme en este proyecto, por sus valiosos aportes, su paciencia y su aliento constante.*

*A mis amigos y compañeros Adri y Dani, por su colaboración en lo técnico y por sobre todo por su gran apoyo en lo personal.*

*A mis amigas Mari y Luchi por el aguante y su paciencia.*

*A Laura por permitirme seguir haciendo lo que me gusta y apoyar mis proyectos.*

*A John por motivar esta línea de investigación.*

*A Fer y Martín de Forrajes.*

*A toda la banda del Biolab: Mauro, Sol, Sole, Eli, Cris, Seba, Vir, Maxi y German.*

*A Gustavo y Ulises.*

*A los becarios Fede, Vicki, Kata y Sil.*

*A la Dacia por llevarme y traerme a los ensayos.*

*A la Facultad de Agronomía de la UNICEN por brindarme un lugar de trabajo y el financiamiento de este posgrado. Por darme la oportunidad de formarme como profesional y sobre todo de conocer muchos amigos.*

*Al Instituto 2 y a la Escuela Agraria de Azul por darme otro lugar de trabajo y por la buena onda de su gente.*

*A mis amigos de afuera, a mi familia política (Videla y Aulicino) y a mi familia de Lobos por bancarme en todas.*

**Declaración**

*Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifiquen explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.*

## Publicaciones derivadas de la tesis

### *Publicaciones científicas*

- Arata, A. F., Lerner, S. E., Tranquilli, G. E., Arrigoni, A. C., & Rondanini, D. P. (2017). Nitrogen  $\times$  sulfur interaction on fertiliser-use efficiency in bread wheat genotypes from the Argentine Pampas. *Crop and Pasture Science*, 68(3), 202-212. ISSN: 1836-0947 - eISSN: 1836-5795
- Arata, A. F., & Lerner, S. E. (2012). Cambios en parámetros de calidad industrial de trigo pan debidos a la N-S fertilización. *Cereales de Invierno: la investigación científico-técnica desarrollada por el INBA, CONICET-FAUBA, el BIOLAB Azul, CIC-PBA-FIBA-FAUNCPBA, la Facultad de Agronomía-UBA y la Facultad de Agronomía-UNCPBA* / compilado por Sebastián A. Steinglein, W. John Rogers ... [et.al.]. - 1a ed. – Tandil: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, 2012. 238 p. ISBN 978-950-658-301-9.

### *Publicaciones de divulgación técnica*

- Arata A.F., Lerner S.E., Tranquilli G.E., Arrigoni A.C., Rondanini D.P. (2017). Fertilización al confesionario: ¿Cuál es la eficiencia de uso de N y S en diversos genotipos de trigo pan?. *Revista Técnica Cultivos de Invierno - Aapresid*, 38-44. ISSN: 1850-0633.

## ÍNDICE GENERAL

### Capítulo 1

<b>Introducción general, objetivos e hipótesis</b>	<b>1</b>
1.1 Introducción general	1
1.1.1 Origen y taxonomía del trigo pan	1
1.1.2 Usos de la harina de trigo y atributos de la calidad panadera	1
1.1.3 Composición de las proteínas del gluten	4
1.1.4 Efectos de la fertilización nitrógeno-azufre	8
1.2 Objetivos	9
1.2.1 Objetivo general	9
1.2.2 Objetivos específicos	9
1.3 Hipótesis	9

### Capítulo 2

<b>Eficiencia de uso de N y S en genotipos argentinos de trigo pan</b>	<b>11</b>
2.1 Introducción	11
2.2 Metodología	13
2.2.1 Material vegetal	13
2.2.2 Experimentos a campo	14
2.2.3 Variables ambientales y fenología	15
2.2.4 Atributos agronómicos	15
2.2.5 Diseño experimental y análisis estadístico	16
2.3 Resultados	17
2.3.1 Condiciones ambientales y fenología	17
2.3.2 Variación del rendimiento y sus componentes determinada por interacciones entre genotipo, fertilización y ambiente asociado a cada experimento	17
2.3.3 Eficiencia de uso del nitrógeno y el azufre afectadas por el genotipo y la fertilidad del ambiente	21
2.3.4 Identificación de genotipos relevantes en eficiencia de uso de nutrientes	24
2.4 Discusión	27
2.5 Conclusiones	30

### Capítulo 3

<b>Influencia de la fertilización con nitrógeno y azufre sobre parámetros de calidad industrial</b>	<b>31</b>
3.1 Introducción	31
3.2 Metodología	32
3.2.1 Evaluación de la calidad industrial	33
3.2.2 Diseño experimental y análisis estadístico	33
3.3 Resultados	33
3.3.1 Relación entre los contenidos de nitrógeno y azufre en grano	33
3.3.2 Contenido de proteína en grano y de gluten húmedo	35
3.3.3 Volumen de sedimentación	37
3.3.4 Parámetros alveográficos	39
3.3.5 Análisis conjunto de la variación de la calidad panadera determinada por interacciones entre genotipo, fertilización y ambiente asociado a cada experimento	44

3.3.6 Asociación entre atributos de calidad	48
3.3.7 Relación entre parámetros de calidad y determinantes del rendimiento	50
3.4 Discusión	53
3.5 Conclusiones	58

#### Capítulo 4

#### **El patrón proteico y su relación con cambios en la composición cuantitativa del gluten originados por la fertilización nitrógeno-azufrada**

4.1 Introducción	60
4.2 Metodología	62
4.2.1 Identificación del patrón proteico y cuantificación de subunidades	62
4.2.2 Diseño experimental y análisis estadístico	62
4.3 Resultados	63
4.3.1 Identificación del patrón proteico	63
4.3.2 Cuantificación de subunidades de gliadinas y gluteninas	64
4.3.3 Cambios en la composición cuantitativa del gluten debidos a interacciones entre perfil proteico asociado al genotipo, fertilización y ambiente asociado al experimento	77
4.3.4 Relación entre atributos de calidad y la composición cuantitativa del gluten	85
4.4 Discusión	89
4.5 Conclusiones	97

#### Capítulo 5

#### **Discusión general**

5.1 Estrategias de manejo que modifican el compromiso entre rendimiento y calidad de trigo	99
5.2 Mejora del patrón proteico asociado al genotipo y manejo de la fertilización	101
5.3 La interacción GxA como herramienta para un manejo eficiente orientado a la productividad con calidad	103
5.4 Consideraciones finales y perspectivas futuras	104
5.5 Conclusiones generales	106

<b>Bibliografía</b>	108
---------------------	-----



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Métodos utilizados para determinar atributos de calidad panadera.	3
Tabla 2: Requerimientos de fuerza panadera (W) y relación tenacidad/extensibilidad (P/L) según uso final de la harina.	4
Tabla 3: Cultivares argentinos de trigo pan de ciclo largo (CL) y ciclo corto (CC) utilizados en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2), clasificados según su grupo de calidad (GC) (INASE).	13
Tabla 4: Resultados de los análisis de suelos realizados al inicio de los experimentos 1 (E1) y 2 (E2) para las variables: pH (1:2,5, agua), materia orgánica (%) (Walkley y Black), P (ppm) (Bray & Kurtz I), N de nitratos (kg N ha <sup>-1</sup> ) (Reflectometría) y S de sulfatos (ppm) (Turbidimetría).	14
Tabla 5: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para rendimiento en grano (R) y subcomponentes: número de granos por m <sup>2</sup> (NG), peso de mil granos (PMG), número de espigas por m <sup>2</sup> (NE) y número de granos por espiga (GE) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	18
Tabla 6: Medias de rendimiento (R) (g m <sup>-2</sup> ) para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	19
Tabla 7: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para eficiencia agronómica del N (EAN) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	22
Tabla 8: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para contenido de N en grano (%N) y contenido de S en grano (%S) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	22
Tabla 9: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) de los tratamientos con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) y eficiencia de recuperación de S aparente (ERS) de los tratamientos sin N y con S (N0S1) y con N y con S (N1S1) para los genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	23
Tabla 10: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para la relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	34
Tabla 11: Medias de la relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) y para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2).	35
Tabla 12: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV)	

consideradas para contenido de proteína en grano (%Pro) y contenido de gluten húmedo (%GH) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	36
Tabla 13: Medias de contenido de proteína en grano (%Pro) y de contenido de gluten húmedo (%GH) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2).	37
Tabla 14: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para volumen de sedimentación (SDSS) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	38
Tabla 15: Medias de volumen de sedimentación (SDSS) (mm) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2).	39
Tabla 16: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y relación P/L (P/L) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	40
Tabla 17: Medias de fuerza panadera (W) (J 10-4) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) y para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2).	41
Tabla 18: Medias de relación P/L (P/L) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicado el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2).	43
Tabla 19: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 18.	46
Tabla 20: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 19.	46
Tabla 21: Matriz de coeficientes de correlación de Pearson (r) y probabilidades (p-valor) entre fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L), contenido de proteína en grano (%Pro), contenido de gluten húmedo (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	48
Tabla 22: Modelo de regresión lineal múltiple (Stepwise) que estima la fuerza panadera (W) en función del volumen de sedimentación (SDSS) y el contenido de proteína (%Pro) para todos los tratamientos de fertilización de los genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	50
Tabla 23: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 23.	51
Tabla 24: Valores asignados por Payne et al. (1987) a las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW), sobre las cuales se obtiene el Glu-1 quality score que califica a las variedades según su patrón genotípico.	60
Tabla 25: Subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) (Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1), variantes alélicas en gluteninas de bajo peso molecular (LMW) (Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3), tipo de gliadinas (Gli), presencia de	

introgresión con centeno (Int), presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7 (7oe), valor de Glu-1 quality score (SC) (Payne, 1987) y grupo de calidad (GC) para los cultivares analizados en cada experimento (E1, E2).	64
Tabla 26: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para las relaciones entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) y entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	65
Tabla 27: Medias de la relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) y para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando grupo de calidad (GC) y Glu-1 quality score (SC), en ambos experimentos (E1, E2).	66
Tabla 28: Medias de la relación entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando grupo de calidad (GC) y Glu-1 quality score (SC), en ambos experimentos (E1, E2).	68
Tabla 29: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para las relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci Glu-1 respecto al total de gluteninas de alto peso molecular (Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	70
Tabla 30: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para las relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci Glu-3 respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular (Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW) y entre el contenido de $\omega$ -gliadinas y $\alpha$ -, $\beta$ - y $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).	71
Tabla 31: Medias de la relación entre el contenido de $\omega$ -gliadinas y $\alpha$ -, $\beta$ - y $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para cada genotipo de ciclo largo y corto, indicando grupo de calidad (GC) y Glu-1 quality score (SC), en los experimentos 1 y 2.	74
Tabla 32: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para la relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI) para todos los tratamientos de fertilización de los genotipos K. Gavilán (GAV) y K. Castor (CAS) en el experimento 1 (E1) y GAV en el experimento 2 (E2).	76
Tabla 33: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 35.	85
Tabla 34: Coeficientes de correlación de Pearson (r) y probabilidades (p-valor) entre atributos de calidad (V1) (%Pro: contenido de proteína, %GH: gluten	

húmedo, SDSS: volumen de sedimentación, W: fuerza panadera, P: tenacidad, L: extensibilidad) y variables que definen la composición cuantitativa del gluten (V2) (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Corte esquemático de un grano de trigo.	2
Figura 2: Modelo estructural del gluten de trigo en el que las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) proporcionan una cadena principal de puentes disulfuro que interactúa con otras proteínas por enlaces disulfuro (LMW) y por enlaces no covalentes (gliadinas).	4
Figura 3: Fracción de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T% = 13,5%) revelando patrones de bandas contrastantes de gluteninas de alto peso molecular (HMW) (S-pobres) y bajo peso molecular (LMW) (S-ricas) para dos variedades de trigo pan.	6
Figura 4: Fracción de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T%= 13,5%) revelando patrones de bandas contrastantes de $\omega$ -gliadinas ( $\omega$ -gli) (S-pobres) y $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gliadinas ( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) (S-ricas) para dos variedades de trigo pan.	7
Figura 5: Distribución de áreas con deficiencias de azufre en la Región Pampeana de Argentina.	11
Figura 6: Precipitaciones estacionales (mm) y temperatura media (° C) para ambos experimentos (E1, E2) y media histórica (H) para el período 1994-2011.	17
Figura 7: Promedio de rendimiento (R) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2).	18
Figura 8: Promedio de peso de mil granos (PMG) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2).	20
Figura 9: Promedio de biomasa aérea total para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en el experimento 2 (E2).	21
Figura 10: Correlaciones entre las eficiencias de recuperación de nutrientes aparentes (ERN, ERS) y los incrementos de rendimiento en grano ( $\Delta R$ ) y de contenido de nutrientes en grano ( $\Delta\%N$ , $\Delta\%S$ ) entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados de los genotipos de ciclo largo y corto en el experimento 1 (E1) y experimento 2 (E2).	24
Figura 11: Eficiencia agronómica del N aplicado (EAN) para cada genotipo en cada experimento (E1, E2), con bajo nivel S (S0) y alto nivel de S (S1).	25
Figura 12: Eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de cada genotipo en cada experimento (E1, E2).	26
Figura 13: Eficiencia de recuperación de S aparente (ERS) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1), de cada genotipo en cada experimento (E1, E2).	27
Figura 14: Promedio de relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2).	34
Figura 15: Promedio de contenido de proteína en grano (%Pro) (%) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2).	36
Figura 16: Promedio de fuerza panadera (W) (J 10-4) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S	

- (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). 42
- Figura 17: Promedios de tenacidad (P) (mm) y extensibilidad (L) (mm) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ambos ciclos en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2). 44
- Figura 18: Efecto de la interacción entre genotipo y tratamiento de fertilización (N0S0: sin N y sin S, N0S1: sin N y con S, N1S0: con N y sin S, N1S1: con N y con S) sobre contenido de proteína (%Pro), contenido de gluten (%GH), contenido de S en grano (%S), relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad (L) y asociación entre dichas variables en el experimento 1 (E1). 45
- Figura 19: Efecto de la interacción entre genotipo y tratamiento de fertilización (N0S0: sin N y sin S, N0S1: sin N y con S, N1S0: con N y sin S, N1S1: con N y con S) sobre contenido de proteína (%Pro), contenido de gluten (%GH), contenido de S en grano (%S), relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad (L) y asociación entre dichas variables en el experimento 2 (E2). 47
- Figura 20: Relación entre la fuerza panadera (W) y el contenido de proteína en grano (%Pro) en el experimento 1 (E1) y experimento 2 (E2) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC). 48
- Figura 21: Promedio de fuerza panadera (W) y contenido de proteína en grano (%Pro) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2). 49
- Figura 22: Relación entre la fuerza panadera (W) y el volumen de sedimentación (SDSS) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2). 50
- Figura 23: Efecto de la interacción entre grupo de calidad (GC) dependiente del genotipo y ambiente asociado a cada experimento (E1, E2) sobre rendimiento (R), número de granos por m<sup>2</sup> (NG), peso de mil granos (PMG), contenido de proteína (%Pro), contenido de gluten (%GH), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W) y relación P/L (P/L) y asociación entre dichas variables. 52
- Figura 24: Promedio de la relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). 67
- Figura 25: Fracciones de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T%= 13,5%) revelando el patrón de bandas en las gluteninas de alto peso molecular (HMW) y bajo peso molecular (LMW) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) del cultivar AGP 127 (127) en el experimento 2 (E2) y densitometría de cada fracción, en donde la intensidad de píxeles indica la abundancia de cada subunidad proteica. 72

- Figura 26: Promedio de la relación entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de todos los genotipos en ambos experimentos (E1, E2). 73
- Figura 27: Fracciones de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T%= 13,5%) revelando el patrón de gliadinas S-pobres ( $\omega$ -gli) y S-ricas ( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) del cultivar AGP 127 (127) en el experimento 2 (E2) y densitometría de cada fracción, en donde la intensidad de píxeles indica la abundancia de cada subunidad proteica. 75
- Figura 28: Promedio de la relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos Castor (CAS) y Gavián (GAV) en el experimento 1 (E1) y GAV en el experimento 2 (E2). 76
- Figura 29: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de HMW (Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 1 (E1). 78
- Figura 30: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de HMW (Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 2 (E2). 79
- Figura 31: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de LMW (Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 1 (E1). 81
- Figura 32: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de LMW (Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 2 (E2). 82
- Figura 33: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación el tipo de gliadinas (CSS, CNN) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 1 (E1). 83

- Figura 34: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW, Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación el tipo de gliadinas (CSS, CNN) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 2 (E2). 84
- Figura 35: Efecto de la interacción entre grupo de calidad (GC) y Glu-1 quality score (SC=S) dependientes del genotipo y ambiente asociado a cada experimento (E1, E2) sobre contenido de gluten (%GH), fuerza panadera (W), relación P/L (P/L), volumen de sedimentación (SDSS), relación entre el contenido de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU), relación entre el contenido de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW), relaciones entre los contenidos de algunas subunidades de gluteninas codificadas por los loci Glu-1 respecto al total de gluteninas de alto peso molecular (Glu-B1x/HMW, Glu-D1x/HMW) y relaciones entre los contenidos de algunas subunidades de gluteninas codificadas por los loci Glu-3 respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular (Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW) y asociación entre dichas variables. 86
- Figura 36: Relaciones entre el contenido de gluten húmedo (%GH) y el rendimiento en grano (R), y entre la fuerza panadera (W) y la relación tenacidad/extensibilidad (P/L) para los tratamientos de fertilización sin N y sin S (N0S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2). 101
- Figura 37: Relación entre el Glu-1 quality score (SC) y el grupo de calidad (GC) para los genotipos de ciclo largo (CL: símbolos llenos) y corto (CC: símbolos vacíos) utilizados en ambos experimentos. Se indica junto a cada punto el número de variedades para cada combinación de SC y GC. 103



## Abreviaturas

%GH: contenido de gluten húmedo  
 %N: contenido de Nitrógeno  
 %Pro: contenido de proteína  
 %S: contenido de Azufre  
 %SC: porcentaje de variabilidad explicada por cada fuente de variación del ANOVA  
 $\Delta\%N$ : incremento de contenido de Nitrógeno en grano entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados  
 $\Delta\%S$ : incremento de contenido de Azufre en grano entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados  
 $\Delta NG$ : incremento de número de granos por m<sup>2</sup> entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados  
 $\Delta PMG$ : incremento de peso de mil granos entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados  
 $\Delta R$ : incremento de rendimiento entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados  
 100: Buck SY 100  
 127: Buck AGP 127  
 304: ACA 304  
 601: ACA 601  
 801: ACA 801  
 ACP: Análisis de componentes principales  
 AGU: Buck Aguará  
 BAT: biomasa aérea total  
 BI1: BIONTA 1000  
 BI2: BIONTA 2001  
 BI3: BIONTA 3000  
 C: ciclo  
 CAP: Klein Capricornio  
 CAS: Klein Castor  
 CC: ciclo corto  
 CHC: Buck Chacarero  
 CHJ: Klein Chajá  
 CHU: Relmó INIA Churrinche  
 CL: ciclo largo  
 CNN: patrón de gliadinas semejante al cultivar Cheyenne  
 CON: Relmó INIA Cóndor  
 CP: componente principal  
 CS: Chinese Spring  
 CSS: patrón de gliadinas semejante al cultivar Chinese Spring  
 CV: coeficiente de variación  
 E1: experimento 1  
 E2: experimento 2  
 EAN: eficiencia agronómica del Nitrógeno aplicado  
 ERN: eficiencia de recuperación aparente del N en grano  
 ERS: eficiencia de recuperación aparente del S en grano  
 FAS: Buck AGP Fast  
 FLE: Klein Flecha  
 FV: fuente de variación  
 G: genotipo

GAV: Klein Gavilán  
 GC: grupo de calidad  
 GE: número de granos por espiga  
 GLI/GLU: relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas  
 Glu-A1x/HMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-A1x* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular  
 Glu-A3/LMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-A3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular  
 Glu-B1x/HMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-B1x* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular  
 Glu-B1y/HMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-B1y* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular  
 Glu-B3/LMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-B3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular  
 Glu-D1x/HMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-D1x* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular  
 Glu-D1y/HMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-D1y* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular  
 Glu-D3/LMW: relación entre el contenido de la subunidad de gluteninas codificada por el locus *Glu-D3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular  
 HMW/LMW: relación entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular  
 HMW: subunidades de gluteninas de alto peso molecular  
 IC: índice de cosecha  
 JAB: Klein Jabalí  
 L: extensibilidad  
 LIQ: Cooperación Liqueur  
 LMW: subunidades de gluteninas de bajo peso molecular  
 MEJ: Buck Mejorpan  
 MO: materia orgánica  
 N/S: relación entre los contenidos de Nitrógeno y Azufre en grano  
 N: Nitrógeno  
 N0S0: tratamiento testigo sin fertilizar  
 N0S1: tratamiento fertilizado con Azufre  
 N1S0: tratamiento fertilizado con Nitrógeno  
 N1S1: tratamiento fertilizado con Nitrógeno y Azufre  
 Nd/R: cociente entre el Nitrógeno disponible y el rendimiento  
 NE: número de espigas por m<sup>2</sup>  
 NG: número de grano por m<sup>2</sup>  
 P/L: relación tenacidad/extensibilidad  
 P: tenacidad  
 PMG: peso de mil granos  
 Pp: precipitaciones  
 PRO: Klein Proteo  
 R: rendimiento en grano por m<sup>2</sup>  
 S: Azufre  
 SC: *Glu-1 quality score*  
 SDSS: volumen de sedimentación  
 SEC/GLI: relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas  
 Sig: nivel de significancia de cada fuente de variación del ANOVA

S-pobres: fracciones proteicas pobres en Azufre

S-ricas: fracciones proteicas ricas en Azufre

T: temperatura

T%: relación acrilamida/bisacrilamida

TAU: Klein Tauro

TOR: Relmó INIA Torcaza

W/%Pro: cociente entre la fuerza panadera y el contenido de proteína

W: fuerza panadera

$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli: relación entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas

## Resumen

La disponibilidad de nitrógeno (N) y de azufre (S) condiciona el rendimiento y la calidad industrial del grano en trigo pan, existiendo complejas interacciones entre ambos nutrientes, el genotipo y el ambiente explorado. El objetivo general es analizar el efecto de la fertilización con nitrógeno y azufre sobre los componentes del rendimiento y la calidad industrial de variedades argentinas de trigo de diferentes grupos de calidad, y relacionar dicho efecto con el patrón proteico de cada genotipo. Se analizaron datos de rendimiento, calidad industrial y composición del gluten provenientes de 2 experimentos a campo realizados en la localidad bonaerense de Azul (36,83°S; 59,88°O) que incluyeron 24 genotipos de trigo pan contrastantes en ciclo y calidad industrial, cultivados bajo diferentes planteos de fertilización nitrógeno-azufrada. La disponibilidad de N resultó la principal determinante del rendimiento y de algunos parámetros de calidad en los distintos ambientes. La fertilización azufrada incrementó los promedios de rendimiento y biomasa aérea total en 118,47 y 191,1 g/m<sup>2</sup>, respectivamente, cuando el nivel de N fue elevado en el ambiente con limitaciones de N y S, mejorando la eficiencia de uso del primero. El genotipo fue el principal factor determinante del volumen de sedimentación (SDSS) y la fuerza panadera (W). En el ambiente deficiente en N y S con alta fertilización nitrogenada, la fertilización azufrada afectó en mayor magnitud la calidad, incrementando la fuerza panadera de 286 a 335 J 10<sup>-4</sup> (+17%) y disminuyendo la relación P/L de 2,84 a 0,71 (-75%) en promedio. En conclusión, el genotipo modifica las respuestas a la fertilización, observándose interacciones cuantitativas para el N y cualitativas para el S. La variabilidad genética detectada entre los patrones de gliadinas y gluteninas en genotipos argentinos de trigo pan, determina las relaciones entre fracciones proteicas que definen la composición cuantitativa del gluten, explicando un alto porcentaje de la respuesta a la fertilización observada en parámetros de calidad industrial.

**Palabras clave:** trigo pan, nitrógeno, azufre, interacción GxA, rendimiento, eficiencia de uso de nutrientes, calidad industrial, gliadinas, gluteninas.

***Influence of nitrogen and sulfur fertilization on gluten composition and industrial quality of Argentine bread wheat genotypes (Triticum aestivum L.)***

Nitrogen (N) and sulfur (S) availability affects bread wheat yield and industrial grain quality, establishing complex interactions between both nutrients, the genotype and the explored environment. The general aim of this work is to analyze the effect of N and S fertilization on yield components and industrial quality of Argentine wheat varieties of different quality groups, and relate this effect with the protein pattern of each genotype. Yield, industrial quality and gluten composition data, obtained in two field experiments, were analyzed. These experiments were carried out in Azul, Buenos Aires Province (36.83°S; 59.88°W), including 24 bread wheat genotypes with different cycle length and industrial quality, grown under different nitrogen-sulfur fertilization rates. Nitrogen availability was the main driver of grain yield and some quality parameters in different environments. Sulfur fertilization increased average yield and total above ground biomass, when N level was high in the environment with limitations of N and S, improving use efficiency of the first. Genotype was the main factor determining sedimentation volume (SDSS) and dough strength (W). In N and S deficient environment with high nitrogen fertilization, sulfur fertilization had a higher impact on breadmaking quality, which rose W from 286 to 335 J 10<sup>-4</sup> (+17%) and P/L relation decreased from 2.84 to 0.71 (-75%), on average. In conclusion, genotype modifies quality responses to fertilization, generating interactions, which are quantitative for N and qualitative for S. Genetic variability detected among gliadin and glutenin patterns of Argentine bread wheat genotypes determines relations between protein fractions defining gluten quantitative composition, explaining a large proportion of fertilizer response observed in industrial quality parameters.

**Key words:** bread wheat, nitrogen, sulfur, GxE interaction, yield, nutrient use efficiency, industrial quality, gliadins, glutenins.

## Capítulo 1

### Introducción general, objetivos e hipótesis

#### 1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

##### 1.1.1 Origen y taxonomía del trigo pan

El trigo pan (*Triticum aestivum* L.) es uno de los principales cereales cultivados a nivel mundial, constituyendo una fuente de alimento de consumo directo. Es una especie alohexaploide ( $2n=6x=42$ ) originada por la hibridación espontánea de la especie diploide *Aegilops tauschii* ( $2n=2x=14$ , genoma DD) con el trigo tetraploide *Triticum turgidum* ( $2n=4x=28$ , genomas AABB) (Zohary *et al.*, 2012). La domesticación de esta especie data de los años 7500 - 6500 aC, proceso por el cual esta especie, junto a otras emparentadas, penetraron en la agricultura de regadío de la Mesopotamia y el oeste de Irán (Feldman, 1976).

Al igual que otros cereales, tales como el centeno y la cebada, el trigo pertenece a la tribu Triticeae. Esta es una de las tribus más grandes e importantes de la familia Poaceae (Dewey, 1985). El número de géneros en la tribu Triticeae varía considerablemente entre las diferentes clasificaciones (Stebbins, 1956), sin embargo los géneros *Aegilops*, *Elymus*, *Hordeum*, *Secale* y *Triticum* están incluidos en dicha tribu, independientemente del sistema de clasificación.

Debido a la naturaleza poliploide del trigo, hay un gran potencial para la variación genética y la producción de variedades (Feldman, 1976). Esto contribuye a la gran adaptabilidad que muestra el cultivo, que ha permitido que se difundiera en una vasta extensión en el mundo. En Argentina, en la actualidad se encuentran registradas 95 variedades de trigo pan de ciclo corto, intermedio y largo, distribuidas en 3 grupos de calidad (INASE, 2016). La duración del ciclo se encuentra determinada por caracteres asociados a la sensibilidad fotoperiódica, la vernalización y la precocidad intrínseca, estableciendo en gran medida la adaptación del cultivo a un cierto rango de ambientes (Slafer *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2014).

##### 1.1.2 Usos de la harina de trigo y atributos de la calidad panadera

El trigo se cultiva preferentemente para ser destinado al consumo humano y en menor proporción para forrajes. La molienda del grano de trigo permite obtener harina, harina integral, sémola, así como una gran variedad de productos alimenticios derivados de estos, como pan, galletas, pasta, cereales de desayuno, aperitivos, entre otros. En Europa, el trigo fue la principal fuente de almidón para la fabricación de papel y cartón, hasta que se introdujo el cultivo de maíz (León y Rossell, 2007).

Los granos de trigo son cariopses formados por tres partes principales: el pericarpio, el embrión y el endosperma (Fig. 1). El pericarpio, la testa y la capa de aleurona conforman el salvado de trigo, que está formado por numerosas capas ricas en vitaminas y minerales, con un alto contenido de fibra y proteína. El germen de trigo (embrión) constituye una fuente de vitaminas del grupo B y E, y contiene proteínas, grasas y minerales. El endosperma está formado principalmente por almidón, proteínas y en menor medida, celulosas, presentando un bajo contenido de vitaminas y minerales (Simmonds, 1989). La molienda del trigo consiste en la trituration del grano con objeto de obtener un tamaño de partícula apto para las distintas aplicaciones industriales y

culinarias. La harina blanca, que se obtiene de este proceso, está formada predominantemente por el endosperma (León y Rossell, 2007).

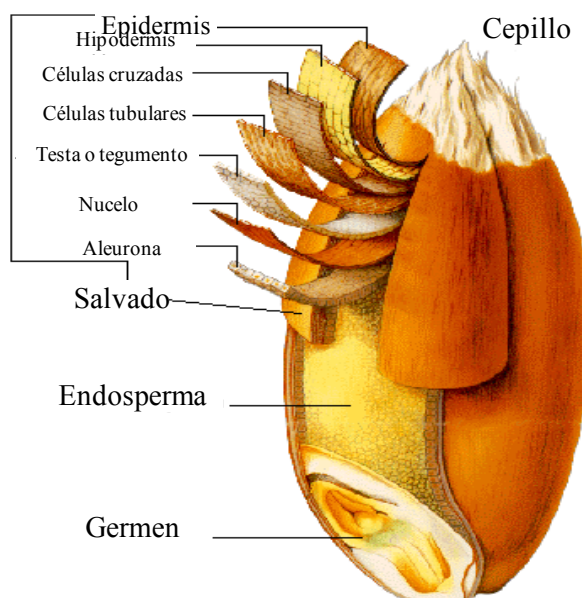


Figura 1: Corte esquemático de un grano de trigo (tomado de tecnologiaslimpias.org).

La aptitud panadera del trigo, que determina su calidad industrial, es un atributo multidimensional determinado por características genotípicas, estructurales del grano y de las reservas que almacena en el endosperma, especialmente almidón y proteínas (Peña *et al.*, 2002). Dado el carácter complejo de la calidad panadera, su determinación requiere de variadas metodologías. La forma idónea de establecer la calidad de una harina para elaborar un determinado producto de panificación es elaborar el producto (Peña *et al.*, 2002). Sin embargo, en muchas ocasiones esto no es posible ya que es necesario tener esta información de manera rápida (para corregir un proceso, por ejemplo) o que se cuenta con muy poca cantidad de muestra. Esto último es frecuente en los planes de mejoramiento genético, donde en cada ciclo de selección se tienen unas pocas espigas de cada línea y es necesario conocer la calidad para elegir el material a multiplicar en la generación siguiente. Debido a esto, es necesario utilizar pruebas predictivas rápidas, que requieran poca muestra y que se correlacionen significativamente con la aptitud de las harinas para elaborar diferentes productos (León y Rossell, 2007). Existen varios ensayos de predicción, basados en distintos parámetros físico-químicos, como el Índice de Zeleny (Sapirstein y Fu, 1998; AACC 2000), el Índice de sedimentación en SDS (SDSS; Dick y Quick, 1983; AACC 2000), el Test de Pelshenke (Saunders y Humphries, 1928; AACC 2000), el Índice de retención en agua alcalina (Yamazaki, 1953; AACC 2000) y la Capacidad de retención de solventes (SRC; Ram y Singh, 2004; AACC 2000). Entre ellos, el SDSS no depende del porcentaje de proteínas en los granos (Brunori *et al.*, 1989), aunque empíricamente se requiere un valor mínimo de 11 % para que la prueba refleje la calidad intrínseca de cada genotipo (Lerner y Ponzio, 2004).

Tabla 1. Métodos utilizados para determinar atributos de calidad panadera.

Atributo de calidad	Equipo	Método
Comportamiento en el amasado	Farinógrafo de Brabender	AACC, 54-21.02
	Consistógrafo de Chopin	AACC, 54-50.01
	Mixolab de Chopin	AACC, 54-60.01
	DoughLab de Newport	AACC, 54-70.01
	Mixógrafo de Swanson	AACC, 54-40.02
Comportamiento durante el laminado y formado	Alveógrafo de Chopin	AACC, 54-30.02
	Extensógrafo de Brabender	AACC, 54-10
Comportamiento durante la fermentación	Reofermentómetro de Chopin	AACC, 89-01.01
Comportamiento de una pasta formada por harina y agua en un ciclo de enfriamiento/calentamiento	Viscógrafo de Brabender	AACC, 61-01
	Analizador rápido de viscosidad (RVA)	AACC, 61-02
Actividad diastásica	Falling number	AACC, 56-81.03
	Amilógrafo de Brabender	AACC, 22-10
<b>Determinaciones complementarias:</b> humedad, cenizas, gluten, gluten index, proteínas, almidón, fibra, acidez, azúcares, índice de maltosa, color y granulometría de la harina.		

La reología es el estudio de cómo se deforma y fluye un material cuando es sometido a una fuerza. Las propiedades reológicas de la masa son un importante factor en la determinación de la calidad de los diferentes productos. Los procedimientos analíticos aplicados al estudio de la masa de los cereales utilizan una serie de determinaciones que simulan las operaciones necesarias para la elaboración del pan, tales como el amasado, la manipulación de las masas o la fermentación (Alvarado y Aguilera, 2001). Estos análisis, realizados mediante el uso de equipos específicos, proporcionan información de cómo se comportan las harinas en este tipo de procesos. Entre los métodos más comunes se destacan los descriptos en la Tabla 1. La efectividad de estos métodos para predecir la aptitud panadera puede variar con el genotipo y el ambiente (Peña *et al.*, 2002).

La elaboración de distintos productos requiere de harinas con distintas propiedades. Por lo tanto, los valores óptimos de los parámetros de calidad industrial difieren según el producto a elaborar, tal como se muestra en la Tabla 2. Actualmente la demanda exige trigos de determinada calidad y aptitud industrial y los volúmenes de compra de trigo por parte de la molinería están cada vez más acotados a especificaciones estrictas. Las panificadoras son muy exigentes porque emplean procesos altamente automatizados, debiendo partir de una materia prima con características homogéneas para elaborar distintos productos que llegan luego a las góndolas de los supermercados (Cuniberti, 2005).



Tabla 2: Requerimientos de fuerza panadera (W) y relación tenacidad/extensibilidad (P/L) según uso final de la harina (adaptado de De la Vega Ruíz, 2009).

Fuerza panadera	Relación P/L	Uso
$200 < W < 350$	$0,6 < P/L < 1,5$	Panadería
$W < 300$	$P/L < 1,2$	Galletitas
$W > 300$	$P/L > 0,9$	Panificadoras

### 1.1.3 Composición de las proteínas del gluten

La aptitud panadera del trigo proviene de la estructura y composición del grano, compuesto principalmente por almidón y proteínas. Las proteínas presentes en el grano de trigo pueden clasificarse según su solubilidad en: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en solución salina), gluteninas (solubles en ácidos débiles o álcalis) y gliadinas (solubles en etanol 70-90%). Las dos últimas, denominadas prolaminas, representan aproximadamente el 80-85% del total de proteínas y son las que forman gluten durante el amasado confiriendo a las harinas las características visco-elásticas necesarias para la panificación, a través de la viscosidad o extensibilidad que le otorgan las gliadinas y la elasticidad o tenacidad que le otorgan las gluteninas (Peña *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2009; Shewry *et al.*, 2009). Las gluteninas forman puentes disulfuro intra e intermoleculares y pueden clasificarse en subunidades de alto peso molecular (HMW) y de bajo peso molecular (LMW). Las gliadinas forman únicamente puentes disulfuro intramoleculares y se dividen en tres tipos estructurales (Gil-Humanes *et al.*, 2012) denominados alfa y beta (solubles en alcohol), gama, y omega ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -) gliadinas (Fig. 2).

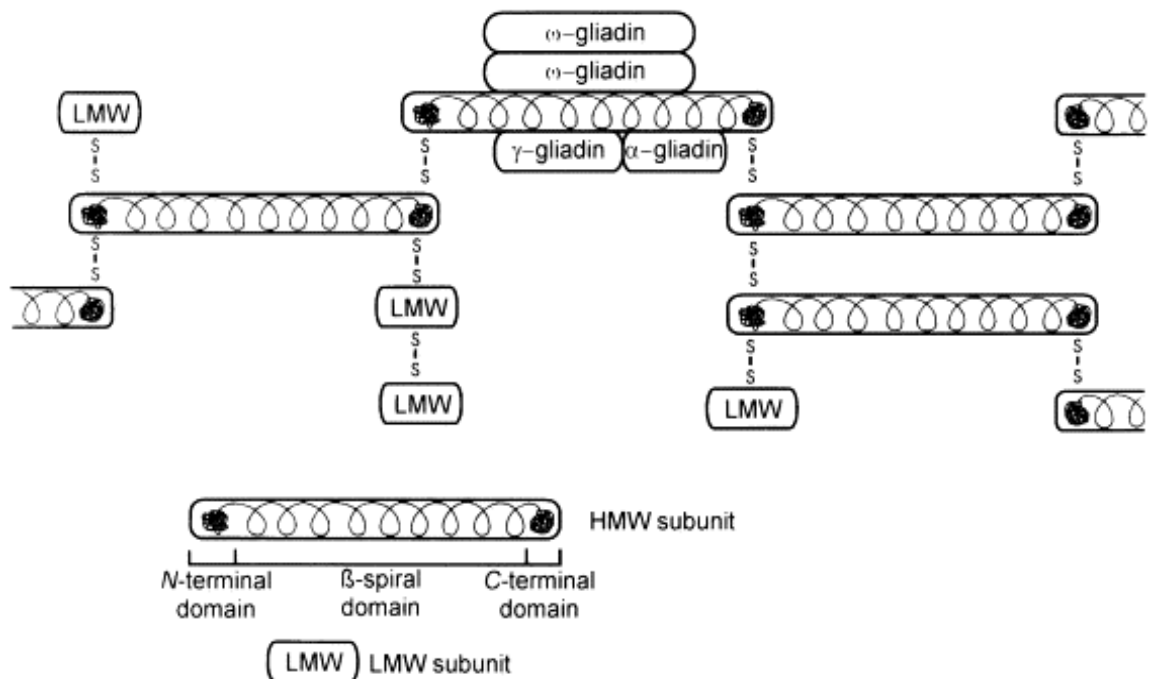


Figura 2: Modelo estructural del gluten de trigo en el que las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) proporcionan una cadena principal de puentes disulfuro que interactúa con otras proteínas por enlaces disulfuro (LMW) y por enlaces no covalentes (gliadinas) (tomado de Shewry *et al.*, 2000).

Las subunidades de gluteninas de HMW son componentes menores en términos de cantidad pero cumplen un rol determinante en la calidad ya que forman largos polímeros (Tatham *et al.*, 1985). Tienen movilidades en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) en el rango de 80-130 kDa, aunque su verdadero peso molecular, deducido de su secuencia de aminoácidos, se encuentra en el rango de 60-90 kDa (Bunce *et al.*, 1985) (Fig. 3). Estas proteínas son codificadas por los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1* localizados en los brazos largos de los cromosomas 1A, 1B y 1D, respectivamente. Cada locus incluye dos genes ligados que codifican dos tipos diferentes de subunidades de HMW, las de tipo-y y tipo-x. Las subunidades de tipo-y son de menor peso molecular que las de tipo-x. A su vez, los genes para subunidades de tipo-y del genoma A usualmente no se expresan en trigos hexaploides (Payne *et al.*, 1981, 1987; Shewry *et al.*, 1992). Se han reportado numerosas formas alélicas para los loci *Glu-1* en distinto germoplasma alrededor del mundo (Payne y Lawrence, 1983, McIntosh *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2006) y en germoplasma argentino (Lerner *et al.*, 2009). Las subunidades correspondientes a dichas variantes alélicas se identifican con números crecientes en base a su movilidad electroforética, siendo las más frecuentes para el locus *Glu-A1*: 1, 2\*, Nulo; para *Glu-B1*: 6+8, 7+8, 7+9, 17+18 (se indica el par de subunidades x+y para cada alelo) y para *Glu-D1*: 5+10, 2+12, 3+12, 4+12. Un caso a destacar es la subunidad Bx7 sobreexpresada, que sólo se presenta asociada a la subunidad By8 (*Glu-B1*), la cual presenta una leve diferencia de movilidad electroforética y una proporción significativamente mayor respecto a la cantidad total de HMW que la subunidad Bx7. A su vez, se asocia con una mayor fuerza de la masa y con una disminución en la capacidad de extracción de las proteínas del gluten (Marchylo *et al.*, 1992). Estas subunidades suelen ser identificadas como 7+8\*.

Las subunidades de LMW tienen pesos moleculares en el rango de 30-50 kDa, constituyendo aproximadamente el 40 % de la fracción de prolaminas del trigo y junto con las subunidades de HMW, forman la estructura de los polímeros de gluteninas (Gras *et al.*, 2001) (Fig. 3). La mayor parte de las subunidades de LMW son codificadas por los loci del complejo *Glu-3* (*Glu-A3*, *Glu-B3* y *Glu-D3*) en los brazos cortos de los cromosomas 1A, 1B y 1D (Gupta y Shepherd, 1990; Jackson *et al.*, 1983). Sin embargo, otros loci han sido descriptos, como *Glu-B2* y *Glu-B4* en el cromosoma 1B (Jackson *et al.*, 1985, Liu y Shepherd, 1995), *Glu-D4* en el cromosoma 1D y *Glu-D5* en el cromosoma 7D (Sreeramulu y Singh, 1997). Se han reportado numerosas formas alélicas de LMW (Ma *et al.*, 2009) pero, dada la naturaleza multigénica de los loci involucrados, la identificación de las mismas es más dificultosa que para el caso de las subunidades de HMW, existiendo discrepancia entre distintos autores.

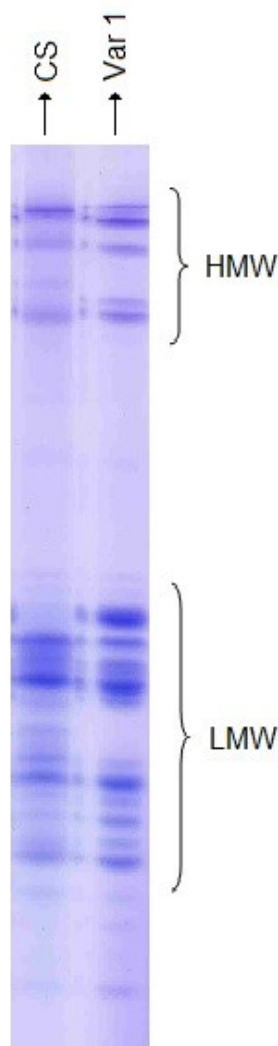


Figura 3: Fracción de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T% = 13,5%) revelando patrones de bandas contrastantes de gluteninas de alto peso molecular (HMW) (S-pobres) y bajo peso molecular (LMW) (S-ricas) para dos variedades de trigo pan. Elaborada en base a datos propios. T%: relación acrilamida/bisacrilamida; CS: Chinese Spring, marcador de la variante alélica  $\alpha$  para los loci que codifican gluteninas.

Las gliadinas son generalmente cadenas simples de polipéptidos (proteínas monoméricas) y tienen un tamaño molecular entre 30 a 75 kDa (Fig. 4). Gran parte de las gliadinas son codificadas por seis loci multigénicos principales localizados en los cromosomas homólogos de los grupos 1 (*Gli-1*) y 6 (*Gli-2*). Los genes que codifican las  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas, ubicados en cromosomas del grupo 1, se encuentran muy próximos a los genes que codifican ciertas subunidades de LMW, por lo que se heredan en forma conjunta (Metakovsky *et al.*, 1990). Dada la naturaleza multigénica de los loci, la diferenciación e identificación de alelos particulares ha resultado muy dificultosa. No obstante, hay algunos patrones proteicos característicos y contrastantes que han sido observados y estudiados. Así, para *Gli-D1* se distinguen dos patrones muy diferentes de gliadinas: el semejante al mostrado por el cultivar Chinese Spring (CSS) y el semejante al observado en el cultivar Cheyenne (CNN). En particular, el rol de cada clase de gliadinas como determinante de la calidad se ha evaluado mediante el silenciamiento de genes, resultando en un incremento en la fuerza de la masa pero con una leve disminución en el volumen de pan al silenciar las  $\alpha$ -gliadinas (Wieser *et al.*, 2006) y en

una reducción de la fuerza de la masa en algunas líneas, sin cambios en el volumen de sedimentación, al silenciar las  $\gamma$ -gliadinas (Gil-Humanes *et al.*, 2012).

Actualmente existe un amplio conocimiento del efecto de las HMW sobre la calidad industrial a nivel mundial, registrándose poca variabilidad genética a nivel nacional. Por otro lado, la información disponible de las LMW es más escasa, tanto en Argentina como en el mundo. Esto se debe en parte a su identificación inexacta, el mayor número de variantes alélicas y la falta de patrones para algunas de ellas. Además, los métodos de separación utilizados inicialmente generaban superposición entre LMW y gliadinas, lo cual mejoró desde la implementación de la extracción secuencial.

La elasticidad (tenacidad) de las masas está principalmente asociada con los polímeros de gluteninas, formados a partir de uniones puentes disulfuro intra e intermoleculares. La viscosidad (extensibilidad) de las masas es atribuida a las gliadinas, que contienen puentes disulfuro intramoleculares. Sin embargo, algunos alelos de gliadinas mostraron a su vez, una asociación positiva con la fuerza de la masa (Metakovsky *et al.*, 1997). Las proporciones de las diferentes fracciones de proteínas, como por ejemplo la relación gliadinas/gluteninas, determinan el balance entre extensibilidad y tenacidad estableciendo la calidad de la harina de trigo y sus diferentes usos finales (Zhao *et al.*, 1999).

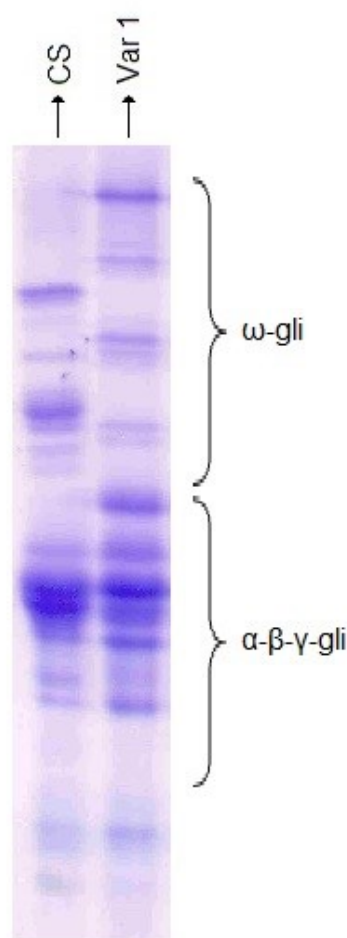


Figura 4: Fracción de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T%= 13,5%) revelando patrones de bandas contrastantes de  $\omega$ -gliadinas ( $\omega$ -gli) (S-pobres) y  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gliadinas ( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) (S-ricas) para dos variedades de trigo pan. Elaborada en base a datos propios. T%: relación acrilamida/bisacrilamida; CS: Chinese Spring, marcador de gliadinas tipo CSS.

Según lo antes descripto, la composición del gluten puede sufrir variaciones cualitativas y cuantitativas. Por un lado, el genotipo determina el patrón proteico que define la composición cualitativa del gluten, además de modificar las relaciones entre fracciones proteicas que determinan la composición cuantitativa (Wieser, 2000). Además del genotipo, el ambiente y el manejo del cultivo generan cambios en la composición cuantitativa del gluten y consecuentemente en la calidad del grano.

#### 1.1.4 Efectos de la fertilización nitrógeno-azufrada

Se han encontrado resultados contradictorios en la literatura acerca de los principales componentes involucrados en las respuestas del rendimiento a la disponibilidad de nutrientes, como son el número de espigas por unidad de superficie y el número de granos por espiga (Abbate *et al.*, 1995; Fischer, 1993). Esto podría ser explicado por cuestiones ligadas a la fertilidad del sitio y/o a distintos genotipos de trigo, utilizados en cada experimento particular, con diferentes estrategias para construir el número de granos y consecuentemente el rendimiento. Para S en particular, se ha reportado que la respuesta a la fertilización se debe a un incremento en el número de granos asociado a un mayor número de espigas por unidad de superficie, sin cambios en el número de granos por espiga (Salvagiotti y Miralles, 2008). Sin embargo, estos resultados corresponden a un sitio y genotipo particular, y requieren ser contrastados contra un amplio rango de genotipos.

La fertilización nitrógeno-azufrada en trigo influye en los contenidos de N y S de los granos y modifica las proporciones relativas de cada tipo de proteína (Zhao *et al.*, 1999; Wieser *et al.*, 2004; Lerner *et al.*, 2006). El bajo contenido de S, debido a deficiencias del nutriente en el suelo o inducido por alta disponibilidad de N, puede provocar un incremento de la relación N/S más allá del óptimo (17/1) (Wrigley *et al.*, 1984). Esto puede afectar negativamente la calidad del grano debido a desbalances en la composición proteica (Luo *et al.*, 2000). El efecto de la fertilización con N y S puede variar en función del ambiente explorado por el cultivo y de atributos genotípicos relacionados con el patrón proteico del gluten y la longitud del ciclo. Algunas de estas interacciones se han comenzado a estudiar en el mundo (López-Bellido *et al.*, 2001; Guarda *et al.*, 2004; Sanchez-Garcia *et al.*, 2015), pero aún es escasa la información generada para un amplio rango de genotipos argentinos cultivados en ambientes de la región pampeana (Salvagiotti *et al.*, 2009). Ampliar este conocimiento es esencial, especialmente porque en las últimas campañas se ha observado una consistente disminución de la calidad del trigo pan argentino. La campaña triguera 2015 presentó una señal de alarma generalizada en toda la cadena del trigo por la baja proteína de la producción nacional (9 % promedio nacional), la más baja observada históricamente (Cuniberti, 2016). Así, analizar en detalle los efectos de la interacción entre el genotipo, el ambiente asociado a cada experimento (año-sitio) y la fertilización nitrógeno-azufrada es relevante para incrementar la calidad panadera utilizando eficientemente los recursos disponibles.

En el Capítulo 2 de esta tesis se estudian los efectos de las interacciones antes mencionadas sobre el rendimiento, sus componentes y algunas eficiencias de uso de los nutrientes, analizando la relación de distintas variables con la recuperación de los fertilizantes. Posteriormente, en el Capítulo 3 se analizan los efectos de estas interacciones sobre la concentración de nutrientes en el grano y distintos parámetros de calidad industrial, estudiando las relaciones entre dichas variables y el rendimiento y sus componentes. Por último, en el Capítulo 4 se aborda la interacción entre el patrón

proteico asociado al genotipo, el ambiente y la fertilización nitrógeno-azufrada sobre la composición del gluten y su relación con la calidad del grano.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo general:

Analizar el efecto de la fertilización con nitrógeno y azufre sobre los componentes del rendimiento y la calidad industrial de variedades argentinas de trigo pertenecientes a diferentes grupos de calidad, y relacionar dicho efecto con el patrón proteico de cada genotipo.

### 1.2.2 Objetivos específicos:

- a) Cuantificar el efecto del agregado conjunto de N y S sobre los componentes del rendimiento y la eficiencia de uso de ambos nutrientes en diferentes genotipos argentinos, bajo condiciones de secano en la región pampeana.
- b) Identificar los parámetros de calidad industrial más influenciados por la fertilización nitrógeno-azufrada.
- c) Analizar los cambios en la calidad industrial asociados a la interacción GxAxF (genotipo x ambiente x fertilización nitrógeno-azufrada).
- d) Cuantificar la variación de subunidades proteicas ricas y pobres en S ante cambios en la disponibilidad de N y S en cultivares con diferente patrón alélico de gliadinas y gluteninas, y analizar su relación con parámetros de calidad.

## 1.3 HIPÓTESIS

Las hipótesis asociadas a los objetivos que se pondrán a prueba en esta tesis indican que:

- 1) La fertilización con N y S en condiciones de secano aumenta el rendimiento a través de variaciones en el número de granos sin cambios en el peso de los mismos, difiriendo la magnitud de las respuestas entre genotipos. La recuperación de los fertilizantes es explicada por variaciones en el número de granos y en el contenido de nutrientes.
- 2) La fertilización nitrogenada incrementa la relación N/S, el contenido de proteína y de gluten, mejorando la fuerza panadera; mientras que la fertilización azufrada no modifica el contenido de proteína pero reduce la relación N/S y equilibra la relación tenacidad/extensibilidad.
- 3) Los genotipos con mayor potencial de calidad presentan mayores respuestas a la fertilización nitrógeno-azufrada en los atributos de calidad industrial, y resultan más estables bajo condiciones de baja fertilidad.
- 4) La expresión de las variantes alélicas que codifican subunidades de gliadinas y gluteninas es afectada en forma diferencial por la fertilización nitrógeno-azufrada y el ambiente, explicando las mayores respuestas bajo condiciones de fertilidad moderada y la estabilidad bajo condiciones de fertilidad pobre en términos de composición cuantitativa del gluten y de calidad industrial de aquellos genotipos de alto potencial de calidad.

La estructura de esta tesis comprende el análisis de la eficiencia de uso del N y S en trigos comerciales argentinos (Capítulo 2), el impacto de la fertilización sobre la calidad industrial (Capítulo 3), el patrón proteico y la composición cuantitativa del gluten (Capítulo 4), finalizando con una Discusión general y Conclusiones (Capítulo 5).

## Capítulo 2

### Eficiencia de uso de N y S en genotipos argentinos de trigo pan

#### 2.1 INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) y el azufre (S) son macronutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas debido a que son componentes clave de enzimas y proteínas de reserva de los granos (Tabe *et al.*, 2002). La disponibilidad de los mismos, y especialmente el N, afecta directamente la producción de biomasa del cultivo, con un efecto de menor magnitud sobre el índice de cosecha (partición de la biomasa total destinada a grano). Así, en ausencia de deficiencias hídricas, el rendimiento del cultivo está estrecha y positivamente asociado a la biomasa total producida durante el ciclo (Dreccer *et al.*, 2003). Las deficiencias nutricionales, en niveles agronómicos, no afectan significativamente la duración del ciclo (Hall *et al.*, 2014), siendo el aumento de la biomasa consecuencia de una mayor eficiencia de captura y conversión de la radiación.

La deficiencia de S reduce el rendimiento de trigo (Withers *et al.*, 1995; Salvagiotti y Miralles, 2008; Barraco *et al.*, 2009; Steinbach y Álvarez, 2014). Estos síntomas han aumentado en Argentina (Fig. 5) y el mundo ([www.sulphurinstitute.org](http://www.sulphurinstitute.org)) debido a la disminución de la emisión industrial de S, al escaso uso de fertilizantes azufrados, a la mayor remoción de S del suelo debido a la aplicación de altas dosis de N y a la reducción del contenido de materia orgánica en los suelos agrícolas debido a la mayor intensidad de cultivo (Naeem y Mac Ritchie, 2003; Zörb *et al.*, 2009; Ercoli *et al.*, 2011; Naeem *et al.*, 2012).

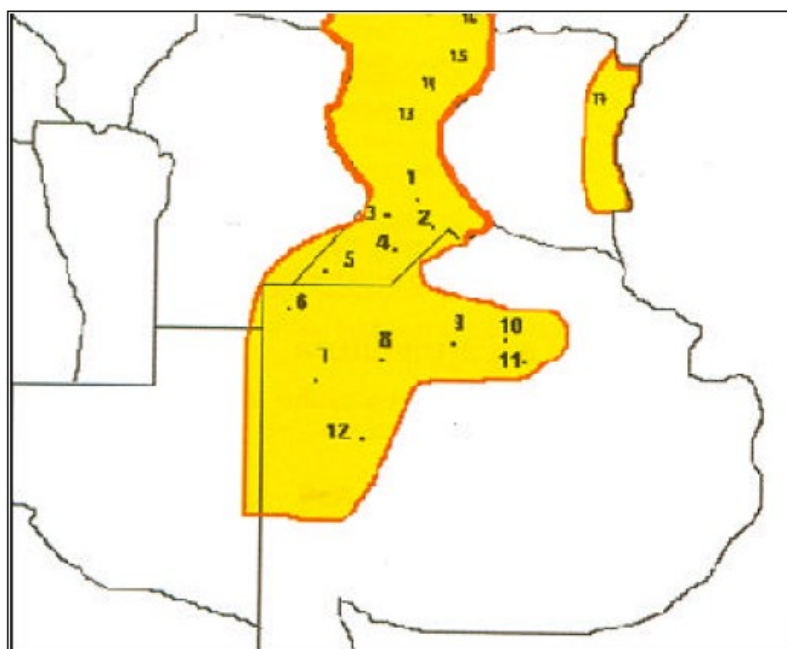


Figura 5: Distribución de áreas con deficiencias de azufre en la Región Pampeana de Argentina. Los números corresponden a localidades muestreadas (tomado de Darwich, 2005).



Se ha observado en un amplio grupo de cultivares de ciclo largo y corto que el elevado potencial de rendimiento se asocia con mayor índice de cosecha y número de granos, esto asociado a la duración de la fase de elongación del tallo (González *et al.*, 2011). Posteriormente, González *et al.* (2014) reportaron que la mayoría de los cultivares argentinos estudiados presentaron limitaciones por destino durante el llenado de granos y algunos pocos presentaron algún grado de co-limitación por fuente-destino (inferior al 10%), apoyando la idea de que el potencial de rendimiento del trigo podría mejorarse aún más mediante el aumento de la fuerza de los destinos (González *et al.*, 2014). En tanto que el impacto agronómico de los cambios en los patrones de desarrollo asociados a la longitud del ciclo del cultivo es ampliamente estudiado para el rendimiento, aún falta un mayor entendimiento sobre la influencia que ejercen dichos cambios sobre las respuestas a la fertilización.

La mayor parte del área cultivada con trigo en Argentina y en el mundo se realiza en condiciones de secano. El efecto de la disponibilidad hídrica sobre el rendimiento y la eficiencia de uso de N y S es variable entre años (Kharel *et al.*, 2011). Para el caso particular de la fertilización con S, Reussi Calvo *et al.* (2006) encontraron un incremento significativo del rendimiento de trigo pan bajo siembra directa en una de dos campañas, sugiriendo que la mayor disponibilidad hídrica durante el período crítico del cultivo permitió expresar la respuesta. La temperatura experimentada por el cultivo también modifica el efecto de la adición de nutrientes minerales. Por ejemplo, los cambios en el peso del grano varían debido al régimen de temperatura durante el período de llenado bajo condiciones controladas (Altenbach *et al.*, 2003; DuPont *et al.*, 2006b). Así, el ambiente explorado modula fuertemente las respuestas del rendimiento de trigo pan a la fertilización con N y S.

La eficiencia agronómica de uso del N indica la eficacia con que los cultivos transforman el N disponible en rendimiento de grano, siendo la eficiencia de recuperación (relación entre el N absorbido y el N aplicado) y la eficiencia fisiológica interna (relación entre rendimiento o biomasa y N absorbido) sus principales componentes (Salvagiotti *et al.*, 2009). Es ampliamente conocido que la eficiencia de uso del N disminuye cuando se incrementa la dosis de fertilizante nitrogenado (Timsina *et al.*, 2001), debido a que otro factor pasa a ser limitante, por ejemplo la disponibilidad de otro nutriente. La fertilización con S potencia el efecto del N e interviene en procesos del suelo que mejoran la eficiencia de uso de este último por parte del cultivo. Se ha demostrado que dicha mejora se debe a una mayor recuperación del N, sin alterarse la eficiencia interna (Salvagiotti y Miralles, 2008; Salvagiotti *et al.*, 2009). Así, queda en evidencia la interdependencia del N y el S, lo cual justifica el estudio del efecto de dichos nutrientes en forma conjunta. Para el N en particular, se han encontrado diferencias genotípicas en eficiencia de recuperación y agronómica (Guarda *et al.*, 2004; Lerner *et al.*, 2013). Sin embargo, poco se conoce sobre la interacción entre genotipo y fertilización combinada en la eficiencia de uso del N y la eficiencia de recuperación de S.

Si bien se han realizado numerosos estudios del efecto de la fertilización nitrogenada y azufrada sobre el rendimiento de trigo, es escasa la información disponible sobre su interacción con el genotipo y el ambiente explorado por el cultivo, así como los componentes asociados a las respuestas en rendimiento y en eficiencia de uso de los nutrientes. Objetivo específico: a) *Cuantificar el efecto del agregado conjunto de N y S sobre los componentes del rendimiento y la eficiencia de uso de ambos nutrientes en diferentes genotipos argentinos, bajo condiciones de secano en la región pampeana.*

## 2.2 METODOLOGÍA

Se condujeron dos experimentos a campo durante dos campañas (E1 y E2), sembrados en la chacra experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (FA-UNCPBA), en la localidad de Azul (36° 47' S 59° 51' O) y en un establecimiento agropecuario lindero (de productor), utilizando un rango de 10-20 genotipos de trigo pan, dependiendo del ensayo, contrastantes en duración de ciclo y calidad industrial, cultivados en secano bajo diferentes condiciones de fertilización nitrógeno-azufrada aplicadas en forma repartida a la siembra y en pleno macollaje. Seis de los genotipos se repitieron en ambos experimentos: 304, 601, 801, BI3, GAV, PRO (Tabla 3). Se midieron variables relevantes a diferentes escalas, abarcando desde variables ecofisiológicas del cultivo, hasta la composición química y expresión proteica en los granos. De esta manera, se evaluó el efecto de la fertilización combinada en dos ambientes contrastantes asociados a cada experimento (año-sitio).

### 2.2.1 Material vegetal

Tabla 3: Cultivares argentinos de trigo pan de ciclo largo (CL) y ciclo corto (CC) utilizados en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2), clasificados según su grupo de calidad (GC) (INASE). Entre paréntesis se indica la forma abreviada en la que se identificarán los genotipos a lo largo de la tesis.

Experimento 1		
	Ciclo largo (CL)	Ciclo corto (CC)
Grupo de calidad 1	ACA 304 (304)	ACA 601 (601)
	BIOINTA 2001 (BI2)	Buck Mejorpan (MEJ)
	Cooperación Liquen (LIQ)	Klein Proteo (PRO)
	Klein Jabalí (JAB)	Relmó INIA Cóndor (CON)
	Relmó INIA Torcaza (TOR)	
Grupo de calidad 2	BIOINTA 3000 (BI3)	ACA 801 (801)
	Buck Chacarero (CHC)	BIOINTA 1000 (BI1)
	Klein Capricornio (CAP)	Klein Castor (CAS)
		Klein Flecha (FLE)
		Klein Tauro (TAU)
Grupo de calidad 3	Buck Aguará (AGU)	Relmó INIA Churrinche (CHU)
	Klein Gavilán (GAV)	
Experimento 2		
	Ciclo largo (CL)	Ciclo corto (CC)
Grupo de calidad 1	ACA 304 (304)	Klein Proteo (PRO)
	ACA 601 (601)	
Grupo de calidad 2	BIOINTA 3000 (BI3)	ACA 801 (801)
	Buck SY 100 (100)	
Grupo de calidad 3	Buck AGP 127 (127)	Buck AGP Fast (FAS)
		Klein Chajá (CHJ)
		Klein Gavilán (GAV)

Las variedades utilizadas fueron elegidas por sus diferencias en calidad panadera en base a datos anteriores del grupo de investigación (Tabla 3). Además de este aspecto, y del ciclo, otros criterios considerados para la elección de variedades fueron la historia de cultivo en la zona (variedades con adaptabilidad probada *versus* nuevos lanzamientos), e información preexistente en algunos aspectos de su composición proteica, incluyendo de este modo algunas variedades que son patrones o presentan nuevas variantes de subunidades de LMW identificadas en colaboración con el grupo “International collaboration for unifying *Glu-3* nomenclature systems in common wheat”, del cual forman parte integrantes de la Cátedra de Cereales y Oleaginosas de la FA-UNCPBA.

### 2.2.2 Experimentos a campo

El experimento 1 (E1) se realizó en la Chacra experimental de la Facultad de Agronomía de Azul en la campaña 2005/06, sobre un suelo bien provisto de MO con disponibilidad moderada de N y S (Tabla 4) y manejado bajo labranza convencional, incluyendo 20 variedades de trigo pan que se detallan en la Tabla 3. Las fechas de siembra fueron 23 de junio y 20 de julio y las densidades 300 y 400 pl/m<sup>2</sup> para los ciclos largos (CL) y cortos (CC), respectivamente. Este experimento fue realizado por la Cátedra de Cereales y Oleaginosas, a cargo de la Ing. Agr. Silvia Lerner, en un lote homogéneo con antecesor trigo.

Tabla 4: Resultados de los análisis de suelos realizados al inicio de los experimentos 1 (E1) y 2 (E2) para las variables: pH (1:2,5, agua), materia orgánica (%) (Walkley y Black), P (ppm) (Bray & Kurtz I), N de nitratos (kg N ha<sup>-1</sup>) (Reflectometría) y S de sulfatos (ppm) (Turbidimetría). Se tomaron las muestras a profundidades (Prof) de 0 a 20 y 20 a 40 cm según corresponda. En el E2 se realizaron dos muestreos por separado para los ciclos largos (CL) y cortos (CC) debido al retraso en la fecha de siembra de estos últimos.

Prof (cm)	pH		MO (%)		P (ppm)		N <sub>nitratos</sub> (kg N ha <sup>-1</sup> )			S <sub>sulfatos</sub> (ppm)		
	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
		CL   CC		CL   CC		CL   CC		CL   CC		CL   CC		CL   CC
0-20	6,9	5,79   5,74	5,98	4,23   3,94	8,6	8,13   4,71	19,99	6,1   8,77	13,37	8,27   13,18		
20-40	7,25						22,82	8,95   5,91	17,43	8,4   14,24		

El experimento 2 (E2) se realizó durante la campaña 2012/13 en un lote lindero al E1 (de productor), provisto con un nivel de MO moderado y baja disponibilidad de N y S (Tabla 4), destinado a rotación agrícola bajo siembra directa y con antecesor soja de primera, incluyendo 10 variedades de trigo pan que se detallan en la Tabla 3. Las fechas de siembra fueron 12 de julio y 12 de septiembre y las densidades 350 y 400 pl/m<sup>2</sup> para los CL y CC, respectivamente. El atraso en las fechas de siembra con respecto a las consideradas para el E1 se debió a las intensas lluvias ocurridas durante la época de siembra.

A la siembra se aplicó P (superfosfato triple de Calcio) según criterio de reposición y se controlaron malezas, plagas y enfermedades. Los tratamientos de fertilización fueron: N0S0 (testigo sin fertilizar), N1S0 (Nitrógeno), N0S1 (Azufre) y N1S1 (Nitrógeno + Azufre). En base a los análisis de suelo se calcularon las dosis de fertilizante nitrogenado (urea) por modelo de balance (Álvarez, 2006) para alcanzar 150 kg N ha<sup>-1</sup> en E1 y 210 kg N ha<sup>-1</sup> en E2, resultando en: E1=107 kg N ha<sup>-1</sup>; E2=195 kg N ha<sup>-1</sup>. Las dosis de fertilizante azufrado (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) fueron de 40 y 25 kg S ha<sup>-1</sup> para E1 y E2, respectivamente. Los mismos se aplicaron al voleo, en macollaje (S en E1) o en

dosis repartida (N en E1, N y S en E2): 35% a la emergencia y 65% en pleno macollaje. Se optó por una fuente sulfatada de S ya que es la forma biodisponible para las plantas, mientras que el S elemental se debe oxidar previamente para ser absorbido, no siendo recomendable en ambientes con condiciones desfavorables para dicho proceso: temperaturas < 6°C, disponibilidad hídrica limitante, bajos contenidos de MO (Torres Duggan *et al.*, 2010; Torres Duggan y Rodríguez, 2014).

### 2.2.3 Variables ambientales y fenología

Se obtuvieron datos de temperatura media, mínima y máxima diarias, y precipitaciones diarias provenientes del Boletín Agrometeorológico del Centro Regional de Agrometeorología, FA-UNCPBA. Los registros corresponden a la Estación Centro del Partido de Azul (Facultad de Agronomía), ubicada a 6800 m de los experimentos. Estos datos se compararon con los promedios históricos para el período 1994-2011. A su vez, para el segundo experimento se dispuso de un índice de estrés hídrico de los cultivos. El mismo es calculado por el Centro Regional en forma semanal para suelos con una capacidad de retención hídrica de 140 mm (aptitud agrícola, 40 cm de profundidad) de la zona centro del partido de Azul, siendo la escala: sin estrés, estrés leve, moderado y estrés fuerte. El estrés hídrico se elabora en base a la relación Evapotranspiración real / Evapotranspiración del cultivo de referencia, aplicando la fórmula de Penman-FAO y del balance de Thornthwait-Matter.

### 2.2.4 Atributos agronómicos

En madurez, se cosecharon manualmente plantas sobre una superficie de 1 m<sup>2</sup> de los 5 surcos centrales, se trillaron mecánicamente y se secaron en estufa a 60 °C. Se determinó el rendimiento en grano (R), el número de granos por m<sup>2</sup> (NG) y el peso de mil granos (PMG). A su vez, en E2, se determinaron los subcomponentes número de espigas por m<sup>2</sup> (NE) y número de granos por espiga (GE) y la biomasa aérea total (BAT) e índice de cosecha (IC). El R se expresó con una humedad de 13 %.

Se calcularon los siguientes indicadores de eficiencia de uso de nutrientes: eficiencia agronómica de N aplicado (EAN), eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) y eficiencia de recuperación de S aparente (ERS) según las siguientes fórmulas adaptadas de Guarda *et al.* (2004):

$$EAN \text{ (kg grano kg N}^{-1}\text{)} = \frac{[\text{rendimiento N1 (kg ha}^{-1}\text{)} - \text{rendimiento N0 (kg ha}^{-1}\text{)}]}{\text{N fertilizante (kg N ha}^{-1}\text{)}}$$

$$ERN = \frac{[\text{N absorbido en grano N1 (g N m}^{-2}\text{)} - \text{N absorbido en grano N0 (g N m}^{-2}\text{)}]}{[\text{N aplicado N1 (g N m}^{-2}\text{)}]}$$

$$ERS = \frac{[\text{S absorbido en grano S1 (g S m}^{-2}\text{)} - \text{S absorbido en grano S0 (g S m}^{-2}\text{)}]}{[\text{S aplicado S1 (g S m}^{-2}\text{)}]}$$

Con el fin de evaluar el desempeño de los genotipos, se establecieron los límites para el intervalo medio restando o sumando el valor de 1 error estándar desde el punto medio del criterio de eficiencia, siguiendo la metodología de Balint *et al.* (2008). Los ranking de eficiencia de uso de N y S (I: ineficiente, M: intermedio, E: eficiente) fueron contruidos de acuerdo a Rengel y Graham (1995).

También se calcularon los incrementos de rendimiento ( $\Delta R$ ), número de granos por  $m^2$  ( $\Delta NG$ ), peso de mil granos ( $\Delta PMG$ ) y contenido de nutrientes en grano ( $\Delta \%N$ ,  $\Delta \%S$ ) entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados para cada nutriente, con el objetivo de establecer los componentes que determinan la eficiencia de recuperación aparente del N y el S.

#### 2.2.5 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue en parcelas divididas en bloques completos al azar con 3 repeticiones, utilizando macroparcels de 9,5 m x 5,6 m en E1 y de 12,5 m x 5,6 m en E2. Los genotipos se aleatorizaron en las parcelas principales y los tratamientos de fertilización en las subparcelas. Se utilizó la interacción bloque x parcela principal como término de error para el efecto genotípico asignado a la parcela principal.

Los efectos de ciclo (C), genotipo (G), N, S y las interacciones dobles y triples sobre el rendimiento y sus componentes y sobre las eficiencias de uso de nutrientes se analizaron por ANOVA y Prueba de Fischer ( $\alpha=0,05$ ), utilizando suma de cuadrados tipo I cuando los datos fueron desbalanceados y tipo III cuando fueron balanceados. Para cada atributo estudiado se calculó el porcentaje de variabilidad explicada (%SC) de cada fuente de variación (FV), dividiendo la suma de cuadrados de la FV sobre la suma de cuadrados del modelo, con el objetivo de estimar la contribución de cada FV del ANOVA sobre la variabilidad de estos atributos (Gómez, 2011). De esta manera, se jerarquizaron las FV que incidieron en cada caso y se determinaron las variables más influenciadas por las componentes de interacción. En aquellos casos donde la interacción resultó significativa pero el %SC de los efectos principales resultó elevado, estos últimos fueron igualmente discutidos con el objetivo de mostrar las tendencias generales de respuesta.

Se utilizó Análisis de Regresión para las relaciones entre el rendimiento y sus componentes. Se realizó Análisis de Correlación (Pearson) entre las eficiencias de uso de los nutrientes y sus determinantes, para evaluar el grado de asociación entre variables. Se utilizó el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2014).

## 2.3 RESULTADOS

### 2.3.1 Condiciones ambientales y fenología

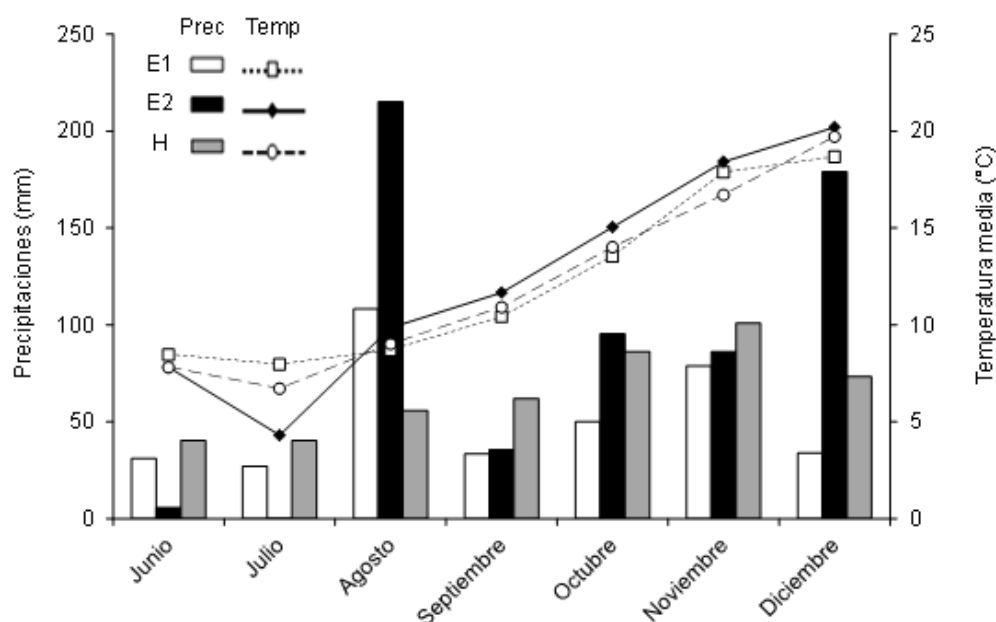


Figura 6: Precipitaciones estacionales (mm) y temperatura media (° C) para ambos experimentos (E1, E2) y media histórica (H) para el período 1994-2011.

Las condiciones ambientales durante el ciclo de los cultivos en E1 y E2 presentaron notables diferencias. En E2 se registraron eventos extremos de precipitaciones en agosto y diciembre, y de baja temperatura en julio. La temperatura media fue similar al promedio histórico en E1, mientras que fueron levemente superiores a partir de agosto en E2 (Fig. 6).

La fenología del cultivo se registró de acuerdo a Zadoks *et al.* (1974). La antesis se produjo a los  $134 \pm 2$  días después de la siembra para los genotipos de ciclo largo (CL) y a los  $111 \pm 4$  días para los genotipos de ciclo corto (CC) en E1, y a los  $118 \pm 4$  días para CL y a los  $74 \pm 4$  días para CC en E2. Al combinar los datos de fenología y el índice de estrés hídrico disponible para E2, previamente descrito, se encontró que la condición hídrica fue buena durante la mayor parte de la ontogenia en ambos ciclos (sin estrés a estrés leve). Sin embargo, se registraron períodos de estrés moderado durante las dos semanas posteriores a la siembra y en la semana previa a antesis para los cultivares de CL. Este último estrés ocurrió tres semanas antes de antesis en los cultivares de CC.

### 2.3.2 Variación del rendimiento y sus componentes determinada por interacciones entre genotipo, fertilización y ambiente asociado a cada experimento

En E1, el rendimiento en grano (R) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó entre 217 y 581 g m<sup>-2</sup> para CL y entre 198 y 529 g m<sup>-2</sup> para CC; y en E2, fluctuó entre 144 y 592 g m<sup>-2</sup> para CL y entre 155 y 661 g m<sup>-2</sup> para CC. El efecto del nivel de S y su interacción con el N dependieron en gran medida de la fertilidad del suelo en cada ambiente. La fertilización con N incrementó significativamente el R en ambos experimentos (20 % en E1 y 52 % en E2, en promedio). El genotipo (G) y la interacción G\*S fueron significativos en E1 (Tablas 5 y 6), mientras que se observaron respuestas a

la fertilización con S que dependieron de la duración del ciclo (C) y el nivel de N en E2 (Tabla 5 y Fig. 7).

Tabla 5: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para rendimiento en grano (R) y subcomponentes: número de granos por m<sup>2</sup> (NG), peso de mil granos (PMG), número de espigas por m<sup>2</sup> (NE) y número de granos por espiga (GE) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	E1						E2									
	R		NG		PMG		R		NG		PMG		NE		GE	
	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig
C	0,3	ns	0,5	ns	0,1	ns	0,3	ns	10,0	***	59,7	***	22,4	***	0,1	ns
G	22,8	**	18,8	*	83,2	***	10,3	ns	6,4	ns	20,9	***	11,9	ns	29,1	*
N	42,3	***	45,8	***	1,1	**	43,2	***	40,2	***	0,3	ns	19,4	***	18,4	***
S	0,5	ns	0,3	ns	0,1	ns	13,1	***	10,1	***	1,2	*	5,0	**	4,7	**
C*N	0,1	ns	0,0	ns	0,2	ns	1,6	*	0,7	ns	0,0	ns	2,5	*	0,0	ns
C*S	0,0	ns	0,1	ns	0,0	ns	0,2	ns	0,1	ns	0,0	ns	0,0	ns	0,3	ns
G*N	4,4	ns	3,3	ns	2,5	*	2,7	ns	3,4	ns	10,0	***	4,7	ns	3,3	ns
G*S	6,7	**	6,7	**	1,1	ns	0,9	ns	1,4	ns	1,4	ns	4,7	ns	4,2	ns
N*S	0,0	ns	0,0	ns	0,6	**	6,8	***	6,4	***	0,0	ns	0,7	ns	4,8	**
C*N*S	0,0	ns	0,0	ns	0,1	ns	1,5	*	0,4	ns	1,1	*	0,8	ns	3,3	**
G*N*S	4,4	ns	4,6	ns	2,0	ns	0,5	ns	0,7	ns	1,7	ns	4,8	ns	3,4	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

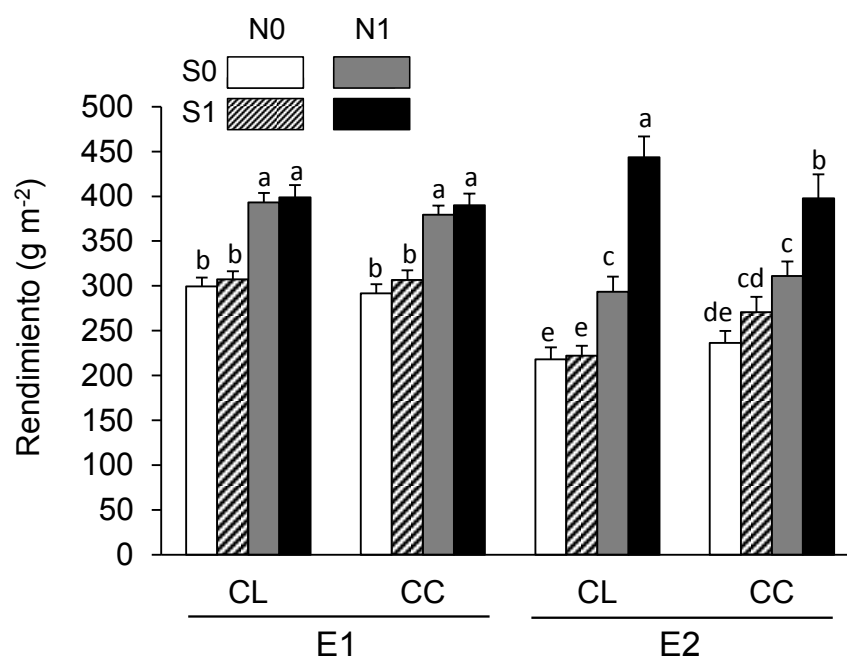


Figura 7: Promedio de rendimiento (R) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento.

Tabla 6: Medias de rendimiento (R) ( $\text{g m}^{-2}$ ) para los tratamientos sin S (S0: N0S0 y N1S0) y con S (S1: N0S1 y N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2). Valores en negrita presentaron diferencias significativas entre niveles de S dentro de cada genotipo. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Rendimiento (R) ( $\text{g m}^{-2}$ )					
Experimento 1					
Ciclo Largo			Ciclo Corto		
Genotipo	S0	S1	Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1</u>	<b>338,7</b>	<b>432,2</b>	<u>601-GC1</u>	<b>307,5</b>	<b>360,3</b>
BI2-GC1	358,8	382,3	<u>801-GC2</u>	<b>345,0</b>	<b>423,0</b>
<u>BI3-GC2</u>	332,3	351,8	BI1-GC2	<b>381,7</b>	<b>332,0</b>
AGU-GC3	346,0	364,8	MEJ-GC1	319,0	327,8
CHC-GC2	379,3	410,2	CAS-GC2	292,5	321,2
LIQ-GC1	345,8	327,7	FLE-GC2	311,5	304,0
CAP-GC2	337,0	296,2	<u>PRO-GC1</u>	295,2	293,5
<u>GAV-GC3</u>	354,7	342,2	TAU-GC2	382,7	388,2
JAB-GC1	339,3	296,8	CHU-GC2	311,8	315,5
TOR-GC1	330,2	326,0	CON-GC1	408,3	417,5
DMS G*S=48,7					
Experimento 2					
Ciclo Largo			Ciclo Corto		
Genotipo	S0	S1	Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1</u>	229,7	292,3	<u>801-GC2</u>	225,3	253,2
<u>601-GC1</u>	295,3	344,7	FAS-GC3	290,8	354,3
<u>BI3-GC2</u>	275,5	359,8	CHJ-GC3	314,7	387,5
127-GC3	234	340,5	<u>GAV-GC3</u>	261,7	333
100-GC2	243,3	325,7	<u>PRO-GC1</u>	275,5	342,8
DMS G*S=65,3 (ns)					

Nota: ns: efecto no significativo en ANOVA.

La fertilización nitrogenada también incrementó el número de granos por  $\text{m}^2$  (NG) en ambos experimentos (E1: N0=7612 granos  $\text{m}^{-2}$ ; N1=10065 granos  $\text{m}^{-2}$  - E2: N0=6567 granos  $\text{m}^{-2}$ ; N1=9785 granos  $\text{m}^{-2}$ ), explicando más del 40 %SC. En E1, los efectos del G y la interacción G\*S sobre NG fueron significativos, mientras que en E2, lo fueron los efectos del nivel de S, el C y la interacción N\*S (Tabla 5). De esta manera, la fertilización con S incrementó el NG solo con alto nivel de N, siendo los subcomponentes que explican dicha respuesta afectados por la duración del ciclo. Para CL se debió a variaciones en el número de granos por espiga (GE) (CL-N1S0=18 granos espiga<sup>-1</sup>; CL-N1S1=24 granos espiga<sup>-1</sup>) y para CC en el número de espigas por  $\text{m}^2$  (NE) (CC-N1S0=465 espigas  $\text{m}^{-2}$ ; CC-N1S1=539 espigas  $\text{m}^{-2}$ ). A su vez, la respuesta promedio al agregado de N fue mayor con alto nivel de S (S0=1932 granos  $\text{m}^{-2}$ ; S1=4505 granos  $\text{m}^{-2}$ ). Por otro lado, los CL alcanzaron en promedio 7373 granos  $\text{m}^{-2}$  y los CC 8979 granos  $\text{m}^{-2}$ . Esta diferencia entre ciclos se debió a cambios en el NE, sin variar el GE.



En E1, el peso de mil granos (PMG) difirió significativamente entre cultivares y sólo AGU, FLE, LIQ y MEJ respondieron negativamente a la fertilización nitrogenada, mientras que sólo BI3 lo hizo en forma positiva. A su vez, se detectaron efectos leves de la fertilización con S, que dependieron del C y el nivel de N. En forma similar, en el E2, el PMG difirió significativamente entre cultivares y el 80 % presentó estabilidad entre niveles de N, mientras que al fertilizar con este nutriente, 601 respondió negativamente y BI3 respondió nuevamente en forma positiva. Los efectos de la fertilización con S en E2 fueron de mayor magnitud y dependieron del C y el nivel de N. A su vez, el PMG promedio de los CC fue significativamente menor que el de los CL (CL=34,69 g; CC=29,42 g), siendo la disminución de menor magnitud en los tratamientos N0S1 y N1S0 (N0S0=18 %, N0S1=13 %, N1S0=13 %, N1S1=17 %) (Fig. 8) (Tabla 5).

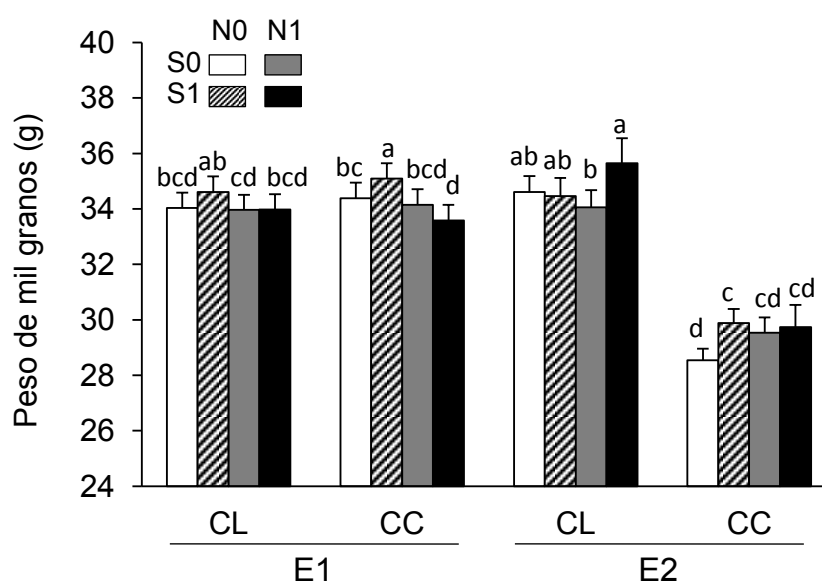


Figura 8: Promedio de peso de mil granos (PMG) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento.

Los cambios en NG explicaron el 82 y el 87 % de la variación en R en E1 y E2, respectivamente (E1:  $p < 0,0001$ ; E2:  $p < 0,0001$ ). En ambos experimentos, la asociación entre R y PMG fue significativa (E1:  $p = 0,0273$ ; E2:  $p = 0,0356$ ) pero con baja correlación (E1:  $R^2 = 0,02$ ; E2:  $R^2 = 0,04$ ). A su vez, se observó un leve efecto de compensación entre los componentes NG y PMG en E1 ( $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,07$ ), en tanto que no fue significativo en E2 ( $p = 0,0858$ ).

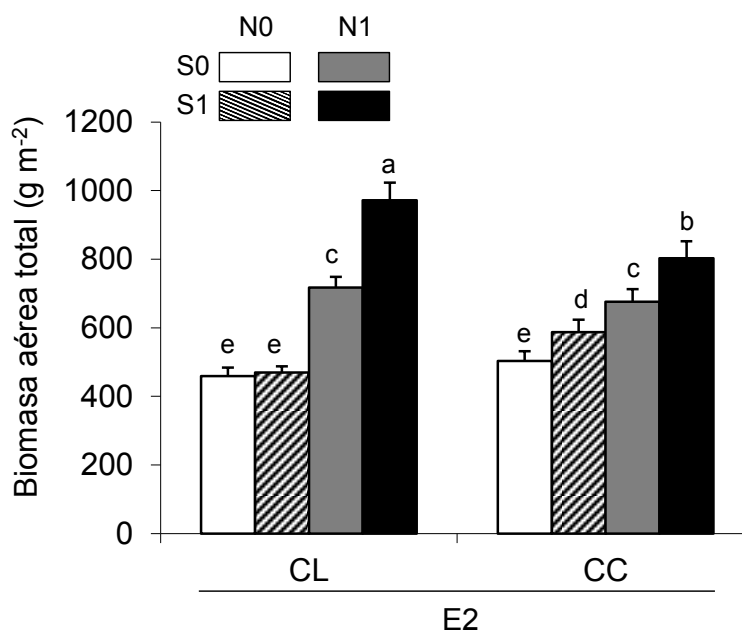


Figura 9: Promedio de biomasa aérea total para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en el experimento 2 (E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias.

Los componentes fisiológicos del rendimiento: biomasa aérea total (BAT) e índice de cosecha (IC), también se vieron afectados por los tratamientos de fertilización en E2 (Tabla 5). Las respuestas de la BAT al agregado de S dependieron del nivel de N y la duración del ciclo (Fig. 9). El IC fue estable entre niveles de N en los CC, y sólo disminuyó con alto nivel del mismo, en los CL (CL-N1=0,38 b; CC-N1=0,42 a; CL-N0=0,41 a; CC-N0=0,41 a). A su vez, el agregado de N sólo disminuyó el IC con bajo nivel de S (N0S0=0,41 a; N0S1=0,41 a; N1S0=0,38 b; N1S1=0,41 a). Por último, los cambios en BAT explicaron el 87 % de la variación en R ( $p < 0,0001$ ), mientras que la asociación entre R e IC fue significativa ( $p = 0,0062$ ), pero con reducida correlación ( $R^2 = 0,06$ ).

### 2.3.3 Eficiencia de uso del nitrógeno y el azufre afectadas por el genotipo y la fertilidad del ambiente

El G y la interacción G\*S fueron las principales fuentes de variación para la eficiencia agronómica de N (EAN) en E1, aunque no resultaron significativas (Tabla 7). Por otro lado, la fertilización azufrada incrementó un 158 % la EAN sólo en E2 (S0=3,85 kg grano kg N<sup>-1</sup> - S1=9,92 kg grano kg N<sup>-1</sup>).

Tabla 7: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para eficiencia agronómica del N (EAN) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	EAN			
	E1		E2	
	%SC	Sig.	%SC	Sig.
C	0,1	ns	3,5	ns
G	34,4	ns	14,0	ns
S	0,4	ns	45,9	***
C*S	0,0	ns	3,3	ns
G*S	11,4	ns (p=0,06)	3,0	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p<0,05$ ;  $p<0,01$  y  $p<0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, S: Azufre.

La fertilización con N incrementó el %N en grano en una magnitud promedio del 28 y 38 % en E1 y E2, respectivamente, observando diferencias genotípicas en la magnitud de las respuestas. A su vez, el %N fue significativamente mayor en los CC para ambos niveles de N. Las respuestas promedio al agregado de N fueron mayores en E2, principalmente en los CC (E1-CL=36 %, E2-CL=41 %, E1-CC=21 %, E2-CC=34 %). Por otro lado, la fertilización con S incrementó el %N en un 1,9 % en E1 y, solo con alto nivel de N, en un 6,6 % en E2 (Tabla 8).

Tabla 8: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para contenido de N en grano (%N) y contenido de S en grano (%S) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	%N				%S			
	E1		E2		E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig
C	7,9	***	3,1	***	1,0	*	9,1	***
G	13,1	***	9,6	***	28,6	***	18,2	**
N	68,0	***	76,9	***	28,6	***	1,0	**
S	0,3	*	0,9	**	0,5	ns	40,9	***
C*N	3,1	***	0,4	*	1,6	*	0,1	ns
C*S	0,2	ns	0,0	ns	1,6	*	0,8	*
G*N	2,7	**	4,4	***	7,0	ns	4,5	*
G*S	1,4	ns	0,9	ns	6,7	ns	1,1	ns
N*S	0,2	ns	1,3	**	0,0	ns	22,7	***
C*N*S	0,1	ns	0,1	ns	0,0	ns	0,1	ns
G*N*S	0,3	ns	0,9	ns	6,6	ns	1,0	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p<0,05$ ;  $p<0,01$  y  $p<0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

En E1, los valores promedio del %S en grano de los distintos genotipos fluctuaron entre 0,115 % (BI3) y 0,141 % (BI1) y se observaron respuestas a la fertilización nitrogenada de mayor magnitud en los CL. Por otro lado, en E2, la fertilización azufrada incrementó el %S entre un 8 y un 59 %, en promedio, con baja y alta disponibilidad de N, respectivamente (N0S0=0,147 % c; N0S1=0,159 % b;

N1S0=0,125 % d; N1S1=0,199 % a). Además, las respuestas promedio a la fertilización con S fueron de 39 % para los CL y de 26 % para los CC (Tabla 8).

En E1, la eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) varió entre 0 y 0,62; siendo estable entre distintos niveles de S en la mayoría de los genotipos. A su vez, los CL mostraron una ERN promedio mayor que los CC (CL=0,35 a; CC=0,30 b). En E2, la ERN fluctuó entre 0,04 y 0,50 y la fertilización con S incrementó al doble la recuperación del N aplicado, en promedio (S0=0,15 b; S1=0,32 a). A su vez, las medias de los genotipos fluctuaron entre 0,31 (BI3) y 0,13 (801) (Tabla 9 y Fig. 12).

Tabla 9: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) de los tratamientos con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) y eficiencia de recuperación de S aparente (ERS) de los tratamientos sin N y con S (N0S1) y con N y con S (N1S1) para los genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

ERNESTOS (E1, E2):									
	ERN					ERS			
	E1		E2			E1		E2	
FV	%SC	Sig	%SC	Sig	FV	%SC	Sig	%SC	Sig
C	4,4	**	2,5	ns	C	0,9	ns	0,7	ns
G	34,4	ns	19,0	*	G	22,2	**	4,5	ns
S	0,6	ns	53,2	***	N	44,4	***	79,5	***
C*S	0,2	ns	2,5	ns	C*N	0,5	ns	2,3	ns
G*S	16,9	*	2,5	ns	G*N	11,1	*	2,3	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p<0,05$ ;  $p<0,01$  y  $p<0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

La eficiencia de recuperación de S aparente (ERS) presentó valores reducidos, que fluctuaron entre 0 y 0,10 en E1 y entre 0 y 0,26 en E2. La fertilización nitrogenada aumentó significativamente la ERS en la mayoría de los genotipos, a excepción de MEJ, AGU, 801 y FLE, que mostraron estabilidad (Tabla 9 y Fig. 13).

Se encontró una elevada correlación de la ERN con el incremento de rendimiento en grano entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados ( $\Delta R$ ) (Fig. 10). Se observó una correlación similar para el incremento de número de granos ( $\Delta NG$ ) pero no para el incremento de peso de grano ( $\Delta PMG$ ). A su vez, la correlación entre ERN y el incremento de contenido de N en grano ( $\Delta \%N$ ) fue significativa pero de menor magnitud. Por otro lado, la ERS mostró una alta correlación con los incrementos de rendimiento ( $\Delta R$ ) y de contenido de S en grano ( $\Delta \%S$ ) (Fig. 10). En este caso, la asociación de dicha eficiencia con  $\Delta R$  se debió principalmente a cambios en  $\Delta NG$  ( $r=0,81$ ) y en menor medida en  $\Delta PMG$  ( $r=0,20$ ).

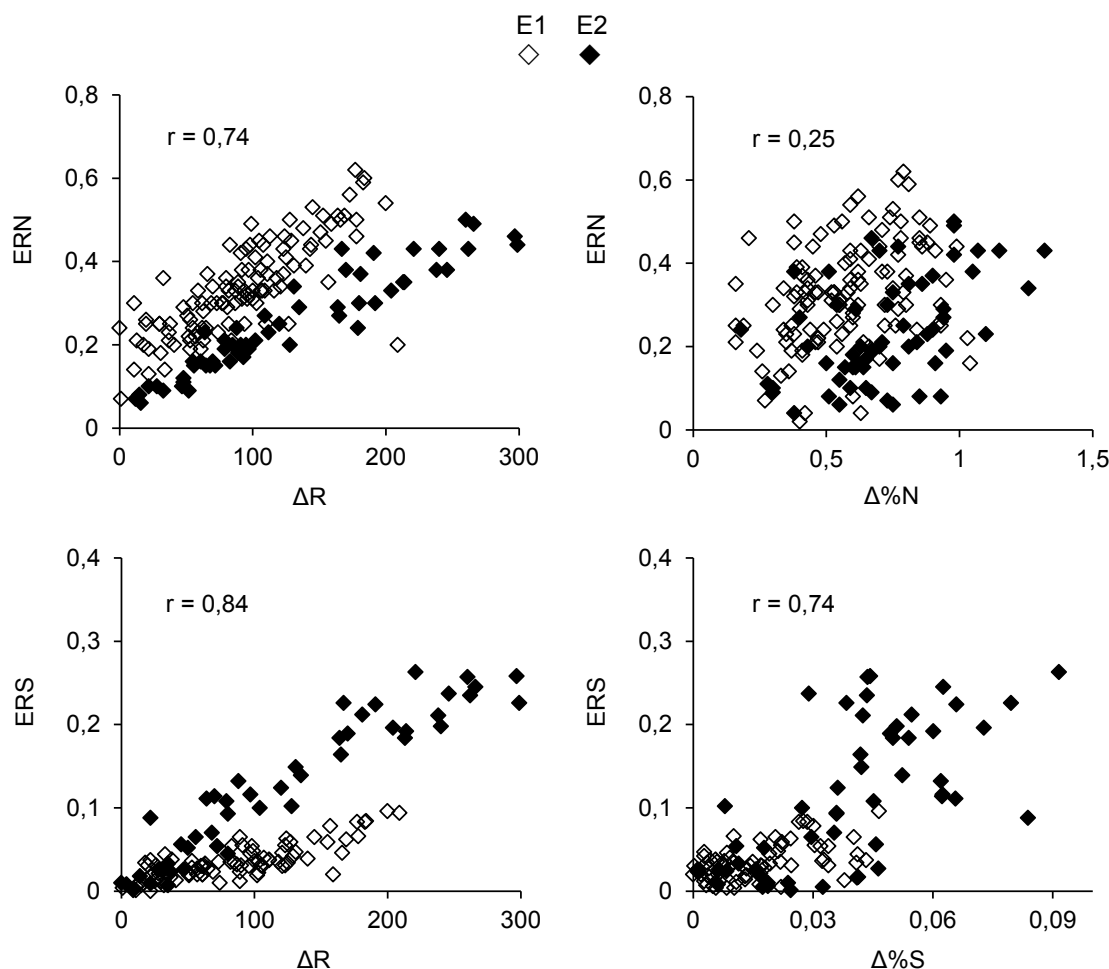


Figura 10: Correlaciones entre las eficiencias de recuperación de nutrientes aparentes (ERN, ERS) y los incrementos de rendimiento en grano ( $\Delta R$ ) y de contenido de nutrientes en grano ( $\Delta\%N$ ,  $\Delta\%S$ ) entre los tratamientos fertilizados y no fertilizados de todos los genotipos en el experimento 1 (E1) y experimento 2 (E2).

#### 2.3.4 Identificación de genotipos relevantes en eficiencia de uso de nutrientes

En cada experimento, los genotipos se clasificaron en base a la EAN para cada tratamiento de fertilización azufrada en las siguientes categorías: eficientes (E: alta EAN), medios (M: EAN intermedia) e ineficientes (I: baja EAN). Algunos cultivares mantuvieron la misma categoría de eficiencia entre distintos niveles de S, incluso en E2 (Fig. 11).

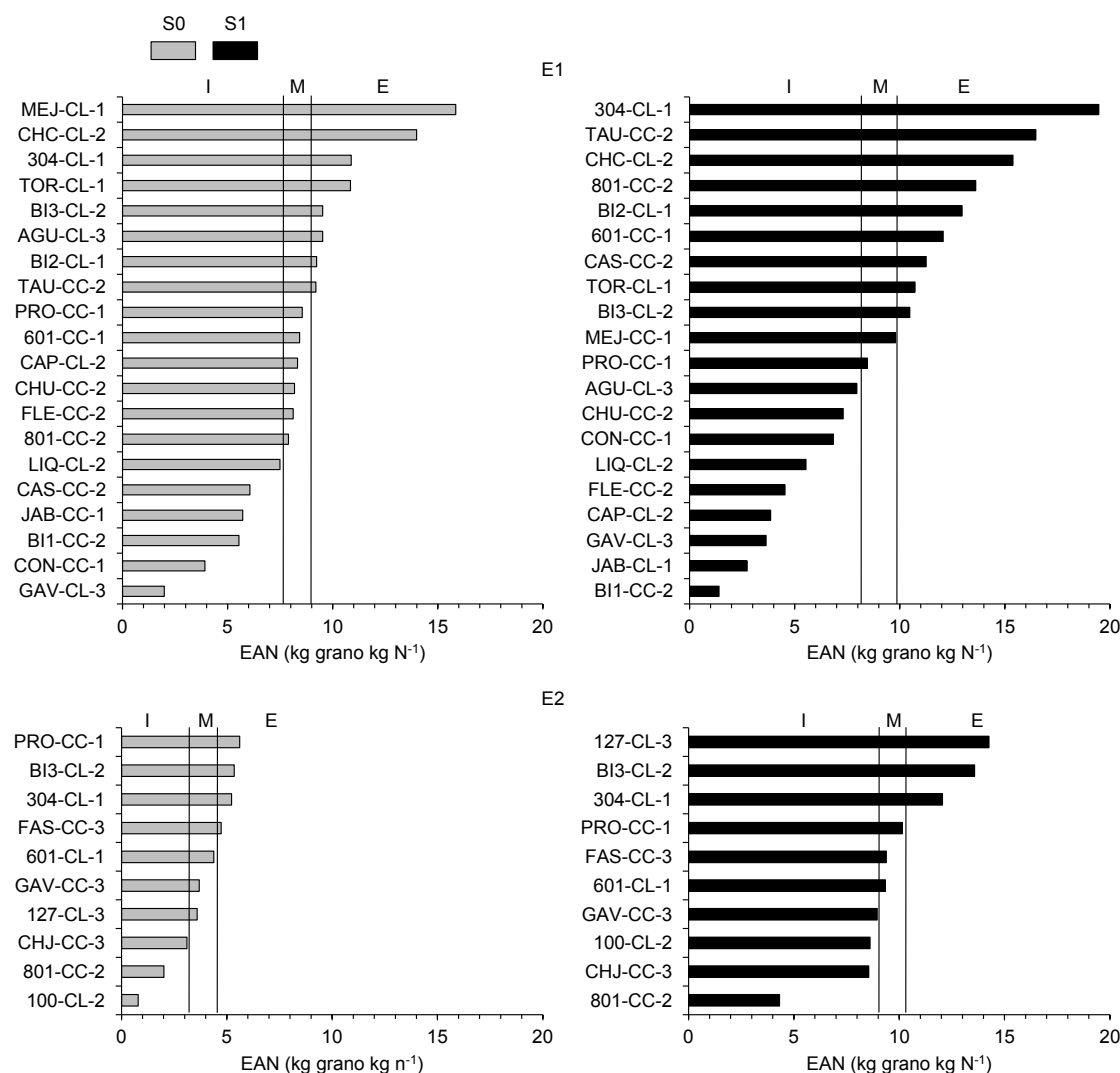


Figura 11: Eficiencia agronómica del N aplicado (EAN) para cada genotipo (ver códigos en Tabla 3) en cada experimento (E1, E2), con bajo nivel S (S0) y alto nivel de S (S1). Los límites para el intervalo medio de eficiencia se formularon restando o sumando el valor de 1 error estándar desde el punto medio del criterio de eficiencia. I: baja EAN; M: EAN intermedia; E: alta EAN.

En cada experimento, se construyeron categorías de genotipos eficientes (E: alta recuperación), medios (M: recuperación intermedia) e ineficientes (I: baja recuperación) para la ERN y la ERS bajo diferentes niveles de nutrientes (Fig 12 y 13). De los 6 genotipos que se repitieron entre experimentos, BI3 fue E para ERN, pero M o E para ERS bajo diferentes niveles de nutrientes en ambos experimentos. Por el contrario, 304 fue E para ANR y ASR en casi todas las combinaciones de ambiente y nivel de nutrientes (excepto en E2, con bajo nivel de nutrientes), mientras que 601 mostró mayor inestabilidad. PRO fue E para ambas eficiencias de recuperación sólo en E2. Por otro lado, GAV fue I en la mayoría de las situaciones y 801 fue más ineficiente en E2 (Fig. 12 y 13).

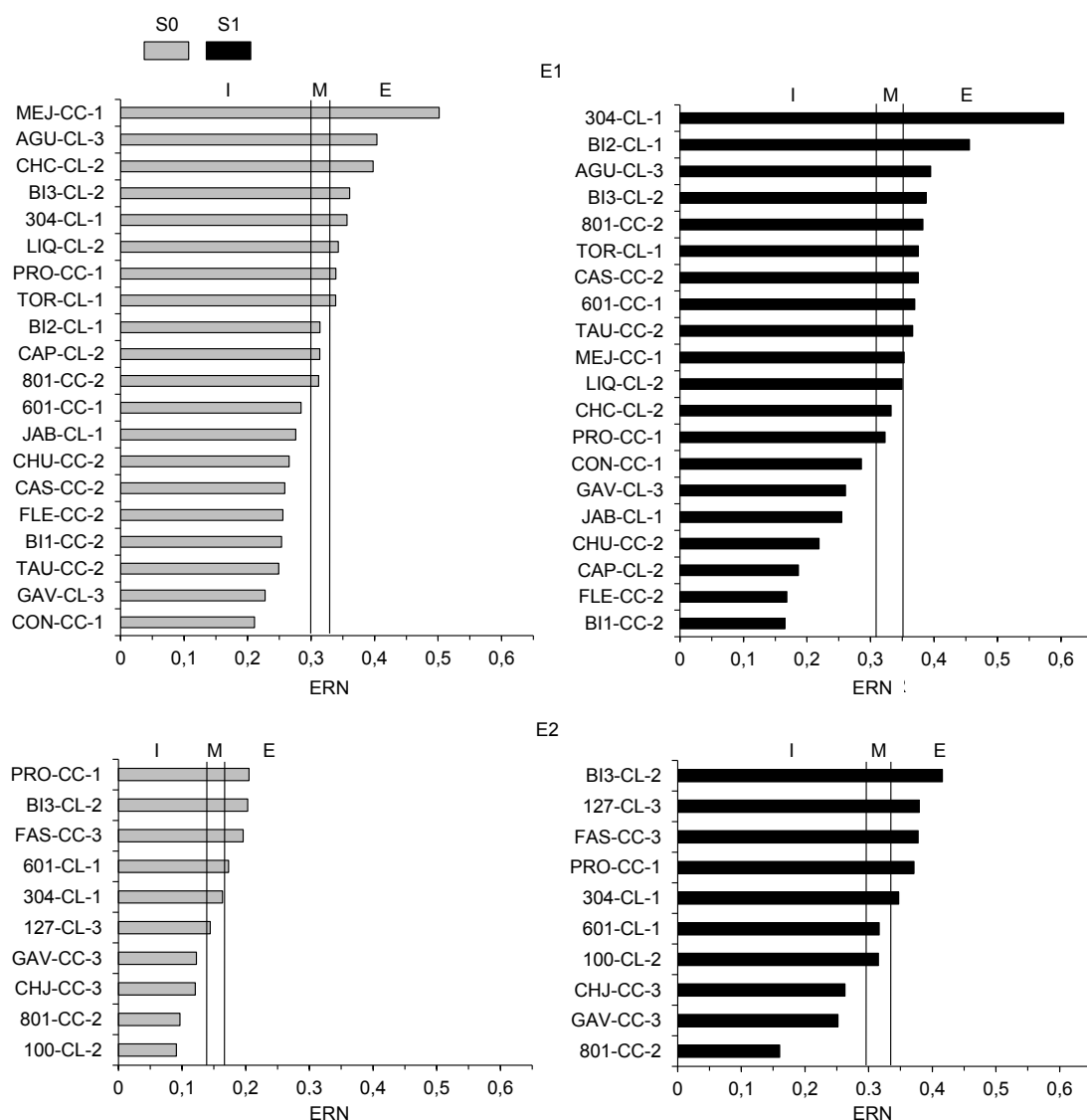


Figura 12: Eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de cada genotipo (ver códigos en Tabla 3) en cada experimento (E1, E2). Los límites para el intervalo medio de eficiencia se formularon restando o sumando el valor de 1 error estándar desde el punto medio del criterio de eficiencia. I: baja recuperación; M: recuperación intermedia; E: alta recuperación.

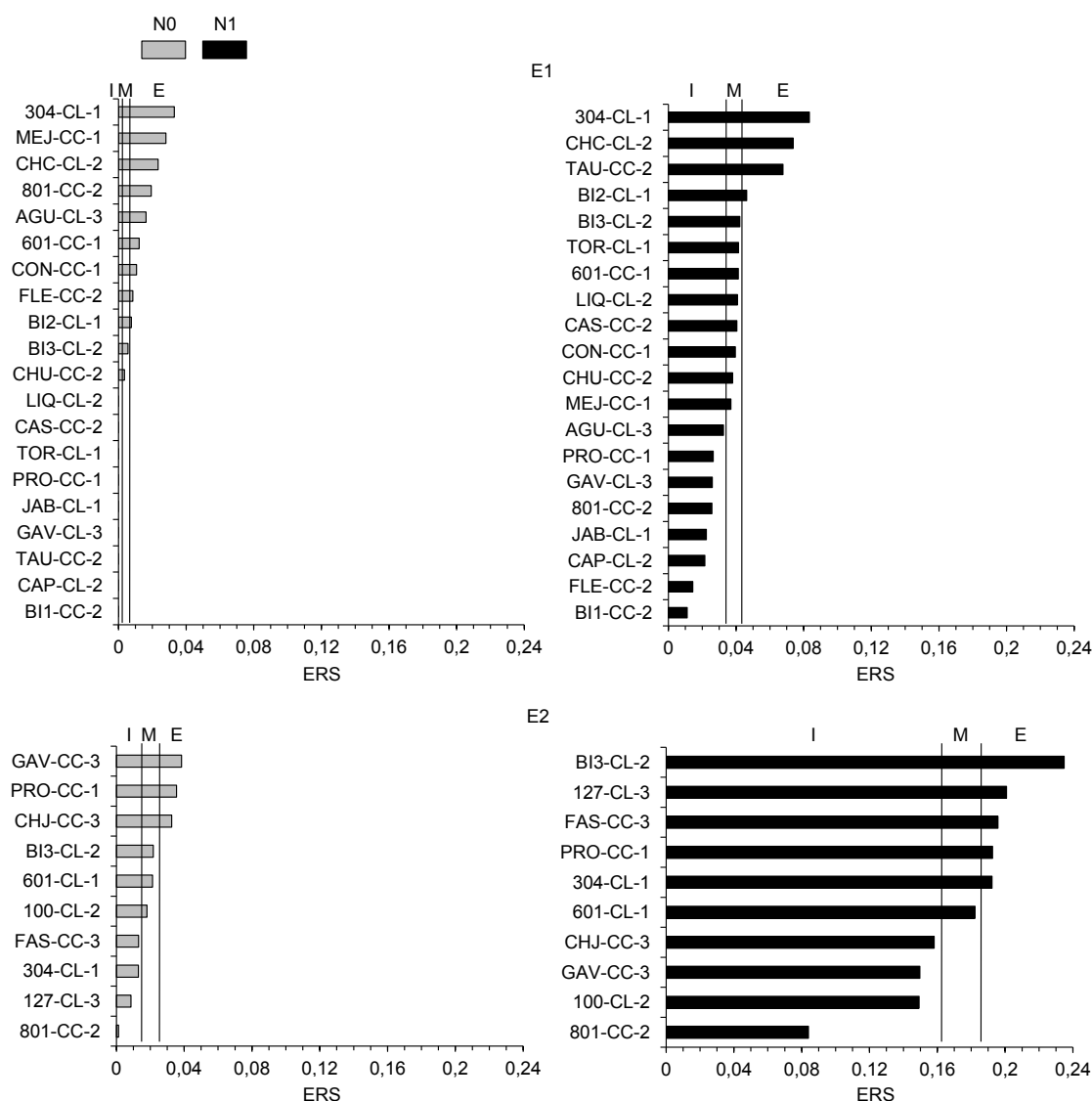


Figura 13: Eficiencia de recuperación de S aparente (ERS) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1), de cada genotipo (ver códigos en Tabla 3) en cada experimento (E1, E2). Los límites para el intervalo medio de eficiencia se formularon restando o sumando el valor de 1 error estándar desde el punto medio del criterio de eficiencia. I: baja recuperación; M: recuperación intermedia; E: alta recuperación.

## 2.4 DISCUSIÓN

En el presente capítulo se analizó el efecto de la fertilización con N y S sobre el rendimiento, sus componentes y la eficiencia de uso de ambos nutrientes en un grupo numeroso de genotipos de trigo pan de distinto ciclo, planteando experimentos durante dos campañas en ambientes con diferente manejo en la ciudad de Azul, Buenos Aires.

El rendimiento (R) de los genotipos fue limitado por la disponibilidad de N en ambos experimentos, mientras que la respuesta a la fertilización con S fue contrastante entre E1 y E2 (que presentaban moderada y baja fertilidad inicial del suelo, respectivamente). En consecuencia, E2 resultó un ambiente con mayor poder discriminante para la caracterización de la eficiencia de uso de nutrientes de genotipos de trigo (Fig. 7 y Tabla 6). En este ambiente se observó una fuerte interacción N\*S para el R, el NG y la BAT, coincidiendo con lo reportado por Salvagiotti y Miralles (2008),



Ercoli *et al.* (2011) y Kumar *et al.* (2012). El aumento del número de granos (NG) debido a la fertilización azufrada con alta disponibilidad de N se asoció con diferentes componentes dependiendo del ciclo del cultivo: número de granos por espiga (GE) para los CL, y número de espigas por m<sup>2</sup> (NE) para los CC. Esto pudo deberse al atraso en la fecha de siembra de los CC y la distribución de las precipitaciones, que determinaron distintas sincronías entre el momento de disponibilidad de nutrientes (oferta) y la fase de desarrollo del cultivo (demanda) en cada ciclo, afectando distintos procesos de la generación del rendimiento. Otros autores coinciden parcialmente con nuestros hallazgos sobre el efecto de la fertilización con S sobre los componentes del rendimiento en grano. Salvagiotti y Miralles (2008) encontraron que la fertilización con sulfato de amonio después de la siembra incrementó el número de espigas por superficie sin afectar el número de granos por espiga en un cultivar de trigo pan de ciclo corto, mientras que Ercoli *et al.* (2011) observaron un incremento del 10 % del número de granos por espiga sin cambios en el número de espigas al fertilizar con sulfato de calcio antes de la siembra en cultivares de trigo candeal de ciclo intermedio a corto.

El peso de mil granos (PMG) fue menor para los genotipos de CC en E2, probablemente debido a la elevada temperatura durante el período de llenado de granos (noviembre-diciembre), tal como observó González *et al.* (2014) para una amplia gama de genotipos y años con temperaturas contrastantes en la Pampa Ondulada. La reducción promedio del PMG fue de menor magnitud en los tratamientos N0S1 y N1S0, mostrando un posible efecto de mitigación de la fertilización simple, de manera similar a lo reportado por Altenbach *et al.* (2003). Se detectaron leves aumentos del PMG debidos al agregado de S en el ambiente de baja fertilidad (E2), difiriendo de lo encontrado por Salvagiotti y Miralles (2008) (Fig. 8). Los efectos de la fertilización sobre el PMG son relevantes para maximizar el rendimiento en harina y las operaciones de molienda en trigo pan.

La fertilización azufrada mejoró la eficiencia agronómica del N aplicado (EAN) sólo en el ambiente con fertilidad pobre (Tabla 7). Del mismo modo, Salvagiotti *et al.* (2009) observaron un incremento en la EUN (kg grano kg N aplicado<sup>-1</sup>) debido a una mayor recuperación del nutriente desde el suelo. El contenido de N en grano se incrementó notablemente al aumentar el nivel de N y levemente al aumentar el nivel de S, existiendo interacción entre ambos nutrientes solo en E2. Esto implica una limitación en la acumulación de N en el grano debido a la deficiencia de S, tal como informaron Salvagiotti *et al.* (2009). En ambos experimentos, la interacción G\*N refleja las diferencias genotípicas en la capacidad de acumulación de N en grano, probablemente asociadas con la captura del nutriente, su partición y/o el potencial de rendimiento. Además, el %N en grano fue mayor en los CC para ambos niveles de N en ambos experimentos (Tabla 8). En E2, esto podría estar parcialmente asociado con la mayor temperatura durante el llenado de granos, que normalmente provoca una reducción en el contenido de almidón del grano en lugar de un cambio en la cantidad de nitrógeno, aumentando la concentración de N en el grano (Jenner, 1994; Castro *et al.*, 2007). Sin embargo, en E1, la temperatura post-floración no difirió entre ciclos, por lo cual otros procesos debieron estar involucrados en las diferencias de %N. Los mecanismos asociados con la capacidad de absorción de N en el período pre-floración y la traslocación de nutrientes a los granos deberían ser exhaustivamente estudiados en los genotipos más prometedores (Avni *et al.*, 2013; Pang *et al.*, 2015).

La fertilización azufrada incrementó el %S en grano en E2, con mayor magnitud cuando el nivel de N fue elevado. Del mismo modo, Ercoli *et al.* (2011) observaron un aumento del %S debido a la fertilización con S en trigo duro, cultivado en ambientes mediterráneos con limitaciones hídricas durante postfloración. Además, la duración del

ciclo parece afectar el %S en grano, siendo mayor en promedio para los CC (Tabla 8). Estos resultados señalan la necesidad de estudiar las dinámicas de acumulación de S y su partición a grano, en genotipos de trigo pan de ciclo largo y corto en la Región Pampeana.

Los valores de eficiencia de recuperación de N aparente (ERN) encontrados en ambos experimentos son similares a los reportados por Guarda *et al.* (2004) para trigos invernales de diferente año de liberación, cultivados en el norte de Italia. La recuperación de S aparente (ERS) fue menor y más variable que la ERN, probablemente debido a las altas dosis de fertilizante azufrado aplicado en comparación con los requisitos absolutos de S del cultivo (Fig. 12 y 13). La ERN mostró una fuerte asociación positiva con el  $\Delta R$ , explicada por variaciones en el NG pero no en el PMG, y en menor medida con el  $\Delta\%N$ . En cambio, la ERS estuvo fuertemente asociada tanto con el  $\Delta R$  como con el  $\Delta\%S$  (Fig. 10). De esta manera, los componentes asociados con la capacidad de los cultivos para recuperar el fertilizante aplicado difieren entre nutrientes. En el caso del N, se determinó en gran medida por las respuestas en el número de granos fijados (Abbatte *et al.*, 1995; Salvagiotti *et al.*, 2009), mientras que para el S las variaciones en el peso del grano y la concentración de S en el mismo también fueron importantes. De manera similar, Malhi *et al.* (2007) reportaron diferencias en la captura de S entre diferentes especies/variedades oleaginosas de *Brassica* y observaron que los efectos de la deficiencia de S y la fertilización fueron más pronunciados en las semillas que en el rastrojo. A su vez, Gironde *et al.* (2014) reportaron que caracteres fisiológicos, tales como la capacidad de removilización de S, podrían utilizarse en programas de mejoramiento para seleccionar genotipos de colza oleaginosa con alta eficiencia de uso de S o capaces de limitar el impacto de la deficiencia de S sobre el rendimiento y la calidad del grano. Por lo tanto, el %S en grano puede ser un marcador fisiológico útil para la selección de genotipos de trigo pan con alta recuperación aparente de S. Además, la mejora del contenido de nutrientes en el grano de trigo (biofortificación) a través de estrategias genéticas resulta un enfoque interesante para modificar el equilibrio nutricional en la dieta humana a gran escala (Chatzav *et al.*, 2010).

Algunos genotipos mostraron una EAN elevada con ambos niveles de S, pudiendo ser adecuados para maximizar el retorno del fertilizante nitrogenado en términos de rendimiento en grano bajo condiciones contrastantes de disponibilidad de S. Por ejemplo, 304 (CL y GC1) y BI3 (CL y GC2) fueron eficientes con ambos niveles de S en ambos experimentos, siendo más adaptables. En cambio, 127 (CL y GC3) y CAS (CC y GC2) requerirían de fertilización equilibrada con N y S para maximizar la EAN, mientras que GAV (CL y GC3) fue ineficiente (Fig. 11). Esta información podría contribuir a la optimización del manejo sitio-específico de la fertilización de trigo pan en la Pampa Húmeda.

La clasificación de los genotipos en base a EAN, ERN y ERS difirió entre ambientes, y no se observaron agrupaciones claras por duración del ciclo y grupo de calidad. Sin embargo, se pudo observar una tendencia entre la estabilidad de la EAN entre niveles de S y la duración del ciclo (CL) y entre la capacidad de recuperación de nutrientes y la calidad del grano (GC1) (Fig. 11, 12 y 13). Otros autores encontraron diferencias en la eficiencia de uso de N entre genotipos de trigo (Le Gouis *et al.*, 2000; Guarda *et al.*, 2004). La interacción entre el genotipo y la disponibilidad de nutrientes para las eficiencias de uso de N y S también se ha informado para canola (Balint *et al.*, 2008; Balint y Rengel, 2009; Balint y Rengel, 2011).

## 2.5 CONCLUSIONES

Este estudio, que incluyó 24 genotipos de trigo pan cultivados en diferentes condiciones ambientales, aporta un completo análisis de las respuestas del cultivo a condiciones contrastantes de disponibilidad de N y S.

*Hipótesis:* 1) La fertilización con N y S en condiciones de secano incrementa el rendimiento a través de variaciones en el número de granos sin cambios en el peso de los mismos, difiriendo la magnitud de las respuestas entre genotipos. La recuperación de los fertilizantes es explicada por variaciones en el número de granos y en el contenido de nutrientes.

La hipótesis 1 se corrobora parcialmente, concluyendo que: i) los efectos de la fertilización azufrada sobre el número de granos y el rendimiento fueron modificados por la fertilidad del ambiente y la duración del ciclo del genotipo, ii) la recuperación aparente del nitrógeno correlacionó principalmente con el incremento del rendimiento asociado al número de granos, mientras que la recuperación de azufre estuvo fuertemente correlacionada con el aumento en la concentración del nutriente en el grano, iii) la eficiencia de uso de nutrientes mostró interacción genotipo x ambiente, iv) el %S en grano resulta un marcador fisiológico útil para la selección de genotipos de trigo pan con alta recuperación de S aparente, y v) genotipos con alta eficiencia de uso de N y S son promisorios para propósitos de buena calidad panadera y biofortificación.

## Capítulo 3

### Influencia de la fertilización con nitrógeno y azufre sobre parámetros de calidad industrial

#### 3.1 INTRODUCCIÓN

La calidad panadera del trigo se encuentra determinada por el genotipo, el ambiente y la interacción entre ambos (Vázquez *et al.*, 2012). La disponibilidad de nutrientes tiene gran importancia dentro de los factores ambientales. El nitrógeno (N) es el mayor determinante de la calidad del grano de los cereales, afectando el contenido de proteínas (%Pro) y la composición de las mismas, alterando las proporciones de las subunidades participantes. Esto último es también afectado por la disponibilidad de azufre (S), el cual es necesario en cantidades adecuadas, que permitan la síntesis de aminoácidos azufrados como la cisteína, necesarios para la formación de puentes disulfuro (Shewry, 2011).

Aplicaciones tempranas de dosis moderadas de N favorecen la fijación de granos en el cultivo, aumentando el rendimiento. A medida que se incrementa la dosis de N, el contenido de proteína en grano aumenta, resultando en una mayor síntesis y acumulación de proteínas de reserva, que en trigo corresponden al gluten. Esto puede modificar los distintos parámetros de calidad industrial de las harinas obtenidas (Lerner *et al.*, 2013; Triboi *et al.*, 2000; Triboi y Triboi-Blondel, 2002). A su vez, aplicaciones tardías de N (desde encañazón), que no generan aumentos del número de granos, influyen sobre la calidad industrial, mejorando el %Pro del grano y su calidad.

Se han reportado efectos diferenciales de la disponibilidad de N sobre la síntesis de proteínas que forman gluten y aquellas que no, siendo favorecidas estas últimas en condiciones de bajo nivel de N, y las primeras en condiciones de alto nivel de N (Shewry, 2007; Godfrey *et al.*, 2010). Sin embargo, hay reportes sobre la influencia de la fertilización tardía que muestran que ésta puede afectar negativamente la calidad, disminuyendo la fuerza del gluten (Johansson *et al.*, 2004). Aún en condiciones de alto N y adecuado nivel de proteínas en el grano puede producirse deterioro de la calidad (Moss *et al.*, 1981, 1983) debido a desbalances entre las fracciones proteicas que componen el gluten. Esto coincide con lo reportado por Zhao *et al.* (1999), que mostraron que la fertilización con N en cultivos de trigo pan en el Reino Unido no siempre significó una mejora en la calidad, dependiendo del tipo de proteínas de cada variedad triguera y de la concentración de S en grano.

El porcentaje de proteína se relaciona directamente con el contenido de N de los granos, por lo que influye sobre la relación N/S en los mismos. Los cambios en estos parámetros inciden sobre las proporciones relativas de cada subunidad o clase de proteínas. Los valores críticos en términos de rendimiento y calidad industrial para deficiencia de S son similares entre sí, siendo de 1,2 mg/g y una relación N/S de 17:1 (niveles inferiores a 1,2 mg/g y relaciones N/S superiores a 17:1 presentan efectos negativos sobre la calidad) (Wrigley *et al.*, 1984). La disponibilidad de S también afecta significativamente la calidad del grano en trigo candeal. Pompa *et al.* (2009) encontraron un efecto significativo del nivel de S sobre el volumen de sedimentación (SDSS), el contenido de gluten y el gluten index. A su vez, Lerner *et al.* (2006) observaron un incremento significativo del %Pro y del SDSS debido a la fertilización azufrada.

Además de la disponibilidad de nutrientes, otras condiciones del ambiente durante el ciclo del cultivo de trigo también alteran tanto la funcionalidad de las harinas como la calidad industrial a través de cambios en la composición proteica del gluten (Randall *et al.*, 1990; Lerner *et al.*, 2006, 2009). Estos efectos modulan la respuesta de la calidad del grano a la fertilización. La disponibilidad hídrica luego de floración y las condiciones meteorológicas y edáficas locales (año x sitio) afectan las respuestas a la fertilización nitrogenada en %Pro y volumen de sedimentación (SDSS) (Saint-Pierre *et al.*, 2008a). En acuerdo con esto, Altenbach *et al.* (2003) encontraron que la sequía incrementó el %Pro en condiciones controladas, siendo esta respuesta modificada por la fertilización post-floración.

El agregado de fertilizante azufrado junto con altas dosis de N incrementó el porcentaje de N y de S en harina en dos de tres años con condiciones ambientales contrastantes, siendo esto consistente con los requerimientos para un balance entre la disponibilidad de N y S que soporten la síntesis de proteínas y otros componentes que contienen S, generando una adecuada composición del gluten y optimizando las propiedades funcionales de las masas (Godfrey *et al.*, 2010). Con este objetivo, algunos productores de la zona triguera inglesa, deficiente en S, aplican rutinariamente fertilizantes azufrados en niveles de 15-20 kg/ha (McGrath *et al.*, 2003). Dado que las deficiencias de S a nivel global tenderán a incrementarse en el futuro, resulta importante buscar estrategias en base a los recursos genéticos existentes y al manejo eficiente de la fertilización para contrarrestar sus efectos a nivel de cultivo, tanto en rendimiento como en calidad de grano.

Los trigos argentinos se clasifican en 3 grupos de calidad en base a parámetros de calidad comercial e industrial, es decir a partir de información fenotípica y no se requiere identificar las variantes alélicas de gliadinas y gluteninas presentes en el genotipo. El grupo 1 corresponde a trigos correctores aptos para panificación industrial, el grupo 2 a trigos aptos para panificación tradicional con más de 8 horas de fermentación, y el grupo 3 a trigos aptos para panificación directa con menos de 8 horas de fermentación (INASE, 2016). Si bien esta clasificación permite conocer a grandes rasgos la calidad potencial de un cultivar, la clasificación puede sufrir modificaciones causadas por el ambiente y el manejo agronómico de los cultivos. Ejemplos de la interacción genotipo x ambiente en trigos americanos ha sido analizada recientemente (Fraschina *et al.*, 2007; Saint Pierre *et al.*, 2008a, b; Vázquez *et al.*, 2012). Esto demuestra la importancia del ambiente de crecimiento en la calidad del grano, lo que sugiere que los objetivos de calidad de los mejoradores deben adaptarse a ambientes específicos. A su vez, resulta necesario conocer los distintos requerimientos de calidad en función del uso final de la harina y explotar esto para segregar y valorizar los distintos tipos de materia prima obtenidos en nuestra amplia zona de producción que presenta regiones agroecológicas muy diversas (Cuniberti, 2016).

Objetivos específicos: b) *Identificar los parámetros de calidad industrial más influenciados por la fertilización nitrógeno-azufrada.*

c) *Analizar los cambios en la calidad industrial asociados a la interacción GxAxF (genotipo x ambiente x fertilización nitrógeno-azufrada).*

### 3.2 METODOLOGÍA

Se utilizaron muestras de granos obtenidas en cada subparcela de los experimentos previamente descriptos en el Capítulo 2.

### 3.2.1 Evaluación de la calidad industrial

Se determinó el contenido de proteína (%Pro) sobre muestras de grano entero mediante analizador NIT (AgriCheck, Bruins Instruments) y se calculó el contenido de nitrógeno (%N) (factor 5,75). Sobre muestras de harina integral obtenida en molinillo experimental, se determinó el contenido de S (%S) por espectrofotometría de absorción atómica (Dunk *et al.*, 1969) y se realizó el test de sedimentación en dodecil sulfato de sodio (SDSS) (Dick y Quick, 1983). En base a los datos previos, se calculó la relación entre el contenido de N y de S en el grano (N/S). Con la harina blanca obtenida previa molienda de los granos en molino experimental a escala, se obtuvieron parámetros reológicos de calidad industrial: fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y relación P/L, con Alveógrafo de Chopin (Método AACC 54-30.02, 2000). En E1 se determinó el contenido de gluten (%GH) sobre muestras de harina (Glutomatic, Perten), y en E2 sobre muestras de grano entero (NIT, AgriCheck, Bruins Instruments). Se clasificaron las variedades según su grupo de calidad (GC) (INASE, 2016).

### 3.2.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó el diseño experimental previamente descrito en el Capítulo 2. Los efectos de ciclo (C), genotipo (G), N, S y las interacciones dobles y triples sobre el contenido de nutrientes y parámetros de calidad del grano se analizaron por ANOVA y Prueba de Fischer ( $\alpha=0,05$ ), utilizando suma de cuadrados tipo I cuando los datos fueron desbalanceados y tipo III cuando fueron balanceados. Los datos expresados en porcentaje fueron transformados a raíz cuadrada para su análisis. Para cada atributo estudiado se calculó el %SC de cada FV, al igual que en el Capítulo 2.

Los efectos conjuntos de genotipo y ambiente asociado a cada experimento, y de genotipo, fertilización y ambiente por experimento se analizaron mediante Análisis de Componentes Principales (ACP) (criterio para conformación de CP: autovector  $> 1/2$  del máximo), con el objetivo de estudiar las asociaciones entre variables de rendimiento y calidad y detectar patrones de respuesta ligados al genotipo. Se utilizó Análisis de Regresión para las relaciones entre distintos atributos que definen la calidad, las cuáles permitieron identificar el tipo de relación entre un atributo y sus determinantes. Se realizó Análisis de Correlación (Pearson) entre parámetros de calidad, para evaluar el grado de asociación entre variables. Se utilizó el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2014).

## 3.3 RESULTADOS

### 3.3.1 Relación entre los contenidos de nitrógeno y azufre en grano

En E1, la relación entre los contenidos de nitrógeno y azufre en grano (N/S) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó en los genotipos de ciclo largo (CL) entre 12,31 y 24,03, con una media de 16,69; y en los de ciclo corto (CC) entre 12,53 y 27,08, con una media de 17,87. En E2, la relación N/S varió en los CL entre 10,86 y 27,44, con una media de 15,90; y en los CC entre 10,61 y 27,90, con una media de 14,66.

Tabla 10: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para la relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	N/S			
	E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig
C	6,7	***	2,5	**
G	32,5	***	5,0	*
N	29,1	***	36,9	***
S	0,0	ns	29,5	***
C*N	1,0	*	0,4	ns
C*S	0,2	ns	1,1	*
G*N	12,0	***	1,8	ns
G*S	7,1	**	2,7	ns
N*S	0,3	ns	15,4	***
C*N*S	0,1	ns	0,1	ns
G*N*S	5,3	ns	1,4	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

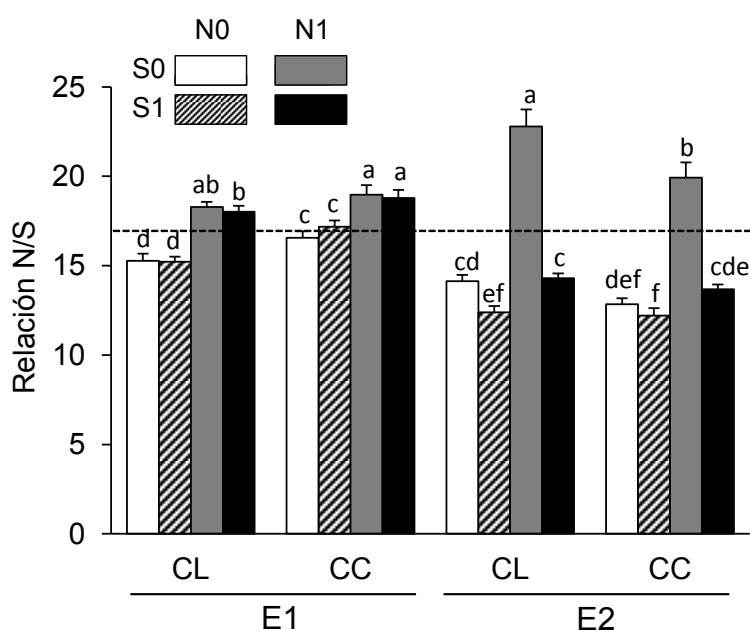


Figura 14: Promedio de relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento. La línea punteada indica una N/S de 17:1.

Tabla 11: Medias de la relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) y para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2). Se indican las diferencias mínimas significativas (DMS) para las interacciones G\*N y G\*S. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Relación N/S											
Experimento 1											
Ciclo Largo			Ciclo Corto			Ciclo Largo			Ciclo Corto		
Genotipo	N0	N1	Genotipo	N0	N1	Genotipo	S0	S1	Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1</u>	13,9	17,0	<u>601-GC1</u>	16,5	18,1	<u>304-GC1</u>	15,6	15,2	<u>601-GC1</u>	16,5	18,0
BI2-GC1	14,9	18,2	<u>801-GC2</u>	15,7	20,3	BI2-GC1	16,0	17,2	<u>801-GC2</u>	17,4	18,6
<u>BI3-GC2</u>	15,1	19,3	BI1-GC2	14,4	15,8	<u>BI3-GC2</u>	17,4	17,0	BI1-GC2	14,5	15,6
AGU-GC3	13,3	18,2	MEJ-GC1	16,5	19,3	AGU-GC3	15,3	16,2	MEJ-GC1	17,7	18,1
CHC-GC2	17,9	17,9	CAS-GC2	16,8	19,5	CHC-GC2	19,7	16,0	CAS-GC2	17,8	18,6
LIQ-GC1	16,3	18,8	FLE-GC2	15,7	17,4	LIQ-GC1	17,6	17,6	FLE-GC2	16,1	17,0
CAP-GC2	16,4	17,7	<u>PRO-GC1</u>	19,2	24,4	CAP-GC2	16,9	17,1	<u>PRO-GC1</u>	22,5	21,2
<u>GAV-GC3</u>	13,9	17,4	TAU-GC2	16,8	17,2	<u>GAV-GC3</u>	15,8	15,5	TAU-GC2	17,9	16,1
JAB-GC1	15,1	19,2	CHU-GC2	18,5	17,8	JAB-GC1	17,4	17,0	CHU-GC2	18,2	18,1
TOR-GC1	15,7	17,8	CON-GC1	18,6	19,1	TOR-GC1	16,1	17,4	CON-GC1	19,0	18,6
DMS G*N = 1,7						DMS G*S = 1,7					

Experimento 2											
Ciclo Largo			Ciclo Corto			Ciclo Largo			Ciclo Corto		
Genotipo	N0	N1	Genotipo	N0	N1	Genotipo	S0	S1	Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1</u>	12,9	16,2	<u>801-GC2</u>	14,6	17,8	<u>304-GC1</u>	16,0	13,1	<u>801-GC2</u>	17,7	14,7
<u>601-GC1</u>	13,2	18,1	FAS-GC3	11,7	16,4	<u>601-GC1</u>	18,6	12,8	FAS-GC3	15,3	12,8
<u>BI3-GC2</u>	13,5	19,4	CHJ-GC3	11,7	15,1	<u>BI3-GC2</u>	19,8	13,1	CHJ-GC3	14,9	11,9
127-GC3	13,3	19,7	<u>GAV-GC3</u>	12,4	18,4	127-GC3	19,3	13,7	<u>GAV-GC3</u>	18,4	12,4
100-GC2	13,4	19,3	<u>PRO-GC1</u>	12,2	16,3	100-GC2	18,6	14,1	<u>PRO-GC1</u>	15,6	12,9
DMS G*N = 2,2 (ns)						DMS G*S = 2,2 (ns)					

Nota: ns: efecto no significativo en ANOVA.

En E1, el agregado de N incrementó la N/S en diferente magnitud dependiendo del C (Fig. 14). A su vez, algunas variedades presentaron estabilidad al fertilizar con N y sólo CHC y TAU redujeron significativamente la N/S al fertilizar con S (Tabla 11). Por otro lado, en E2, el efecto de la fertilización azufrada dependió del C y el nivel de N. La fertilización nitrogenada incrementó un 58 y un 14 % en promedio la N/S con bajo y alto nivel de S, respectivamente (Fig. 14) (Tabla 10).

### 3.3.2 Contenido de proteína en grano y de gluten húmedo

En E1, el contenido de proteína en grano (%Pro) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó en los CL entre 8,67 y 16,68 %, con una media de 12,03 %; y en los CC entre 9,80 y 17,15 %, con una media de 13,04 %. A su vez, el contenido de gluten húmedo (%GH) fluctuó en los CL entre 18,39 y 46,12 %, con una media de 30,84 %; y en los CC entre 23,28 y 51,38 %, con una media de 33,83 %. En E2, el %Pro varió en los CL entre 8,85 y 16,30 %, con una media de 12,88 %; y en los CC entre 10,06 y 18,54 %, con una media de 13,66 %. Por su parte, el %GH varió en los CL entre 20,34 y



39,30 %, con una media de 30,82 %; y en los CC entre 24,42 y 45,08 %, con una media de 33,00 %.

Tabla 12: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para contenido de proteína en grano (%Pro) y contenido de gluten húmedo (%GH) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	%Pro				%GH			
	E1		E2		E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig
C	7,9	***	2,9	***	6,4	***	4,2	***
G	13,2	***	9,6	***	26,3	***	10,7	***
N	68,2	***	76,9	***	55,2	***	72,9	***
S	0,3	*	0,8	**	1,5	***	1,0	**
C*N	3,1	***	0,4	*	3,4	***	1,5	**
C*S	0,2	ns	0,0	ns	0,3	**	0,0	ns
G*N	2,8	**	4,5	***	1,9	**	4,5	***
G*S	1,5	ns	0,8	ns	0,5	ns	0,8	ns
N*S	0,2	ns	1,2	**	0,0	ns	0,8	**
C*N*S	0,1	ns	0,1	ns	0,2	*	0,1	ns
G*N*S	0,5	ns	0,8	ns	0,8	ns	1,0	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

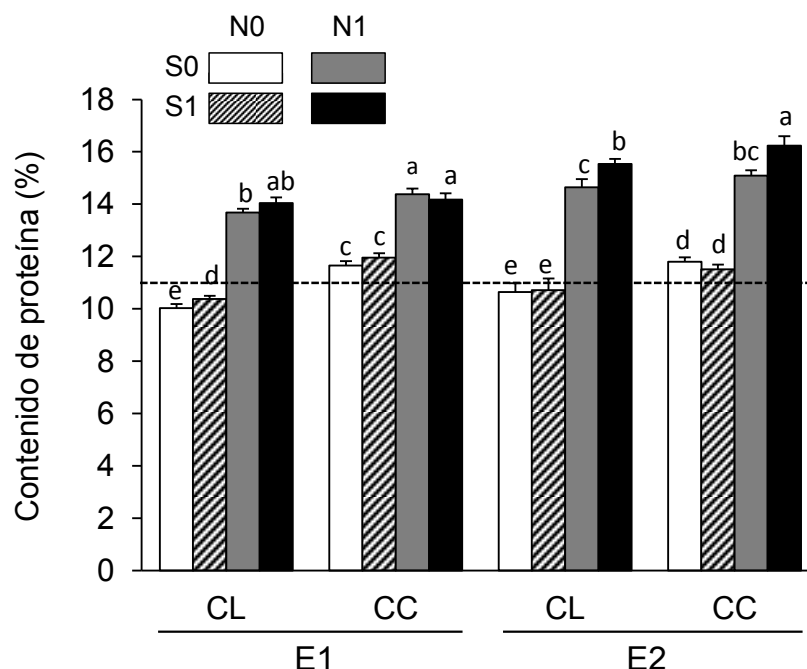


Figura 15: Promedio de contenido de proteína en grano (%Pro) (%) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento. La línea punteada indica el valor base de %Pro según la Norma de comercialización de trigo pan en Argentina (11 %) (Norma XX, Res. 1262/2004).

Tabla 13: Medias de contenido de proteína en grano (%Pro) y de contenido de gluten húmedo (%GH) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2). Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Experimento 1									
Ciclo Largo	%Pro		%GH		Ciclo Corto	%Pro		%GH	
Genotipo	N0	N1	N0	N1	Genotipo	N0	N1	N0	N1
<u>304-GC1</u>	9,9	13,9	24,1	36,5	<u>601-GC1</u>	12,5	14,8	32,1	37,8
BI2-GC1	10,2	13,3	24,7	32,2	<u>801-GC2</u>	11,0	14,0	28,4	36,3
<u>BI3-GC2</u>	9,4	13,4	20,3	32,7	BI1-GC2	11,0	13,4	27,3	33,2
AGU-GC3	9,7	14,2	23,2	36,8	MEJ-GC1	12,5	15,9	31,2	39,6
CHC-GC2	10,5	13,0	24,6	35,1	CAS-GC2	11,4	14,5	29,0	36,7
LIQ-GC1	11,1	15,4	26,6	40,8	FLE-GC2	11,3	13,2	28,6	35,1
CAP-GC2	10,8	13,6	28,9	40,9	<u>PRO-GC1</u>	13,2	16,5	39,2	49,4
<u>GAV-GC3</u>	10,0	13,8	28,7	37,6	TAU-GC2	11,6	12,9	28,5	33,5
JAB-GC1	10,2	14,3	27,0	37,8	CHU-GC2	12,2	14,0	31,4	38,6
TOR-GC1	10,2	13,8	24,7	33,8	CON-GC1	11,5	13,7	27,3	33,2

Experimento 2									
Ciclo Largo	%Pro		%GH		Ciclo Corto	%Pro		%GH	
Genotipo	N0	N1	N0	N1	Genotipo	N0	N1	N0	N1
<u>304-GC1</u>	13,0	15,7	31,6	37,4	<u>801-GC2</u>	11,7	15,2	27,2	35,2
<u>601-GC1</u>	11,1	15,6	25,6	36,6	FAS-GC3	10,9	16,6	26,8	37,7
<u>BI3-GC2</u>	9,9	15,1	22,6	36,2	CHJ-GC3	11,4	14,6	29,2	35,9
127-GC3	9,8	14,3	23,9	35,5	<u>GAV-GC3</u>	12,0	14,8	29,5	35,8
100-GC2	9,6	14,8	23,4	35,4	<u>PRO-GC1</u>	12,3	17,1	30,9	41,8

El agregado de N incrementó el %Pro de 11,00 a 14,07 % y de 11,17 a 15,37 % en promedio en E1 y E2, respectivamente. Todos los genotipos respondieron positivamente al fertilizar con N en ambos experimentos, exhibiendo diferencias en la magnitud de las respuestas (Tabla 13). A su vez, el %Pro fue significativamente mayor en los CC para ambos niveles de N. Las respuestas promedio al agregado de N fueron mayores en E2, principalmente en los CC (E1-CL=36 %, E2-CL=41%, E1-CC=21%, E2-CC=34%). Por su parte, las respuestas a la fertilización con S fueron mayores en E2 y dependieron del nivel de N (Fig. 15) (Tabla 12).

El %GH fue afectado por las mismas FV que el %Pro en ambos experimentos, a excepción de un efecto significativo de las interacciones C\*S y C\*N\*S en E1 (Tabla 12). Con respecto a esto último, se observaron respuestas positivas al agregado de S con ambos niveles de N en los CL y solo con bajo nivel de N en los CC (CL: N0S0=24,49 % f; N0S1=26,03 % e; N1S0=35,01 % b; N1S1=37,83 % a - CC: N0S0=29,62 % d; N0S1=31 % c; N1S0=37,24 % a; N1S1=37,47 % a).

### 3.3.3 Volumen de sedimentación

En E1, el volumen de sedimentación (SDSS) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó en los CL entre 60 y 100 mm, con una media de 88,61 mm, y en los CC entre 60 y 99 mm, con una media de 92,29 mm; mientras que en E2, varió en los CL entre 24 y 97 mm, con una media de 67,11 mm, y en los CC entre 38,50 y 97,50 mm con una media de 64,74 mm. El G resultó el principal factor determinante del SDSS en

ambos experimentos, aunque se detectaron interacciones triples significativas (Tabla 14). Así, las respuestas a la fertilización con N y S dependieron del genotipo y la duración del ciclo, observando interacciones más complejas en E2. En este ambiente, la fertilización nitrogenada con bajo nivel de S presentó un efecto promedio negativo sobre el SDSS, mientras que con alto nivel de S presentó un efecto positivo (Tabla 15).

Tabla 14: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para volumen de sedimentación (SDSS) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	SDSS			
	E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig
C	5,0	***	0,4	ns
G	58,8	***	54,5	***
N	5,1	***	0,5	*
S	0,0	ns	9,2	***
C*N	0,8	**	0,1	ns
C*S	0,3	*	0,9	**
G*N	20,2	***	4,8	**
G*S	3,2	***	2,2	*
N*S	0,9	**	18,5	***
C*N*S	0,1	ns	0,9	*
G*N*S	3,6	***	3,6	**

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

Tabla 15: Medias de volumen de sedimentación (SDSS) (mm) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2). Letras distintas indican diferencias significativas entre promedios dentro de cada experimento. Valores en negrita presentaron diferencias significativas con respecto al testigo dentro de cada genotipo. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Volumen de sedimentación (SDSS) (mm)									
Experimento 1									
Ciclo Largo					Ciclo Corto				
Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1	Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1
<u>304-GC1</u>	94	96	95	92	<u>601-GC1</u>	92	89	<b>84</b>	<b>83</b>
BI2-GC1	97	97	98	99	<u>801-GC2</u>	95	96	95	96
<u>BI3-GC2</u>	83	82	<b>97</b>	<b>95</b>	BI1-GC2	83	<b>95</b>	<b>93</b>	<b>96</b>
AGU-GC3	75	<b>83</b>	<b>91</b>	<b>94</b>	MEJ-GC1	95	97	95	95
CHC-GC2	83	80	81	84	CAS-GC2	66	74	<b>85</b>	<b>90</b>
LIQ-GC1	96	95	96	95	FLE-GC2	94	95	96	94
CAP-GC2	87	87	89	<b>80</b>	<u>PRO-GC1</u>	97	96	95	95
<u>GAV-GC3</u>	61	62	<b>86</b>	<b>83</b>	TAU-GC2	89	86	<b>98</b>	<b>95</b>
JAB-GC1	94	94	97	98	CHU-GC2	94	95	95	93
TOR-GC1	82	<b>90</b>	<b>96</b>	78	CON-GC1	97	98	97	98
DMS G*N*S=4,6									
Promedio	85 d	87 c	93 a	90 b		90 b	92 a	93 a	94 a
Experimento 2									
Ciclo Largo					Ciclo Corto				
Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1	Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1
<u>304-GC1</u>	90	91	<b>77</b>	91	<u>801-GC2</u>	69	62	<b>53</b>	<b>87</b>
<u>601-GC1</u>	71	61	<b>46</b>	<b>88</b>	FAS-GC3	48	43	41	<b>57</b>
<u>BI3-GC2</u>	75	71	<b>52</b>	<b>93</b>	CHJ-GC3	48	46	<b>60</b>	57
127-GC3	42	35	34	<b>64</b>	<u>GAV-GC3</u>	74	64	<b>59</b>	<b>85</b>
100-GC2	60	58	50	<b>95</b>	<u>PRO-GC1</u>	94	93	<b>64</b>	92
DMS G*N*S=11,8									
Promedio	68 c	63 cd	52 e	86 a		66 cd	61 d	55 e	76 b

### 3.3.4 Parámetros alveográficos

En E1, la fuerza panadera (W) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó en los CL entre 173 y 542 J 10<sup>-4</sup>, con una media de 297 J 10<sup>-4</sup>; y en los CC entre 172 y 586 J 10<sup>-4</sup>, con una media de 356 J 10<sup>-4</sup>. A su vez, la relación entre la tenacidad y la extensibilidad (P/L), un indicador del equilibrio de la masa, fluctuó en los CL entre 0,37 y 1,80, con una media de 0,77; y en los CC entre 0,38 y 2, con una media de 0,78. En E2, el W varió en los CL entre 79 y 540 J 10<sup>-4</sup>, con una media de 247 J 10<sup>-4</sup>; y en los CC entre 100 y 491 J 10<sup>-4</sup>, con una media de 273 J 10<sup>-4</sup>. Por su parte, el P/L varió en los CL entre 0,39 y 6,50, con una media de 1,74; y en los CC entre 0,35 y 4,02, con una media de 1,23.

Tabla 16: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L) y relación P/L (P/L) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	W				P				L				P/L			
	E1		E2		E1		E2		E1		E2		E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig
C	12,3	***	1,7	**	6,6	***	0,2	ns	7,0	***	2,6	***	0,0	ns	5,1	***
G	48,3	***	46,8	***	66,0	***	33,1	***	35,6	***	31,5	***	53,4	***	16,7	**
N	24,3	***	24,8	***	0,1	ns	17,1	***	22,5	***	3,5	***	7,5	***	6,6	***
S	0,0	ns	0,6	*	0,7	**	24,6	***	1,7	**	28,6	***	1,9	**	29,1	***
C*N	0,0	ns	0,7	*	0,6	**	2,7	**	3,3	***	0,2	ns	2,5	***	2,8	**
C*S	0,0	ns	4,1	**	0,2	ns	0,0	ns	1,8	**	0,5	ns	0,8	*	3,5	**
G*N	6,3	***	3,5	**	7,5	***	3,8	*	6,6	**	2,0	ns	8,0	***	2,2	ns
G*S	3,6	***	3,5	**	6,6	***	1,2	ns	6,0	**	1,8	ns	7,3	**	4,3	*
N*S	0,1	ns	2,6	***	0,1	ns	10,9	***	0,1	ns	20,9	***	0,2	ns	16,6	***
C*N*S	0,2	*	3,2	***	0,5	*	0,1	ns	0,1	ns	0,3	ns	0,1	ns	1,9	**
G*N*S	1,4	ns	1,9	ns	2,6	*	2,0	ns	3,9	ns	2,2	ns	4,4	*	5,2	*

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p<0,05$ ;  $p<0,01$  y  $p<0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

Los principales factores determinantes del W fueron el G y el nivel de N en ambos experimentos, aunque se detectaron interacciones complejas (Tabla 16). La fertilización nitrogenada incrementó el promedio de W en 29 y 48 % en E1 y E2, respectivamente. Sin embargo, el efecto de la fertilización nitrogenada dependió del genotipo, observando respuestas positivas de diferente magnitud en la mayoría de los cultivares. En cambio, la fertilización azufrada afectó el W solo en algunos genotipos que mostraron respuestas tanto positivas como negativas (Tabla 17). En E2, la respuesta promedio al agregado de S sólo fue significativa con alto nivel de N, siendo positiva en los CL y negativa en los CC (Fig. 16).

Tabla 17: Medias de fuerza panadera (W) ( $J\ 10^{-4}$ ) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) y para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2). Se indican las diferencias mínimas significativas (DMS) para las interacciones G\*N y G\*S. Valores en negrita indican diferencias significativas entre niveles del nutriente para cada genotipo. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Fuerza panadera (W) (J 10 <sup>-4</sup> )											
Experimento 1											
Ciclo Largo			Ciclo Corto			Ciclo Largo			Ciclo Corto		
Genotipo	N0	N1	Genotipo	N0	N1	Genotipo	S0	S1	Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1</u>	<b>282</b>	<b>365</b>	<u>601-GC1</u>	<b>394</b>	<b>450</b>	<u>304-GC1</u>	321	326	<u>601-GC1</u>	<b>391</b>	<b>453</b>
BI2-GC1	<b>325</b>	<b>370</b>	<u>801-GC2</u>	<b>289</b>	<b>369</b>	BI2-GC1	<b>326</b>	<b>369</b>	<u>801-GC2</u>	328	330
<u>BI3-GC2</u>	<b>216</b>	<b>390</b>	BI1-GC2	<b>336</b>	<b>436</b>	<u>BI3-GC2</u>	289	317	BI1-GC2	<b>357</b>	<b>416</b>
AGU-GC3	<b>199</b>	<b>253</b>	MEJ-GC1	<b>365</b>	<b>506</b>	AGU-GC3	227	224	MEJ-GC1	444	427
CHC-GC2	<b>207</b>	<b>245</b>	CAS-GC2	<b>213</b>	<b>293</b>	CHC-GC2	227	225	CAS-GC2	252	253
LIQ-GC1	<b>286</b>	<b>474</b>	FLE-GC2	<b>299</b>	<b>340</b>	LIQ-GC1	<b>407</b>	<b>353</b>	FLE-GC2	304	334
CAP-GC2	263	277	<u>PRO-GC1</u>	<b>383</b>	<b>452</b>	CAP-GC2	264	277	<u>PRO-GC1</u>	411	423
<u>GAV-GC3</u>	<b>201</b>	<b>285</b>	TAU-GC2	<b>274</b>	<b>343</b>	<u>GAV-GC3</u>	237	249	TAU-GC2	324	293
JAB-GC1	<b>305</b>	<b>382</b>	CHU-GC2	<b>233</b>	<b>305</b>	JAB-GC1	<b>367</b>	<b>320</b>	CHU-GC2	278	260
TOR-GC1	<b>265</b>	<b>349</b>	CON-GC1	<b>366</b>	<b>471</b>	TOR-GC1	<b>283</b>	<b>331</b>	CON-GC1	417	419
DMS G*N = 35						DMS G*S = 35					
Experimento 2											
Ciclo Largo			Ciclo Corto			Ciclo Largo			Ciclo Corto		
Genotipo	N0	N1	Genotipo	N0	N1	Genotipo	S0	S1	Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1</u>	<b>257</b>	<b>415</b>	<u>801-GC2</u>	<b>244</b>	<b>332</b>	<u>304-GC1</u>	344	328	<u>801-GC2</u>	<b>316</b>	<b>260</b>
<u>601-GC1</u>	<b>248</b>	<b>348</b>	FAS-GC3	<b>142</b>	<b>241</b>	<u>601-GC1</u>	<b>242</b>	<b>354</b>	FAS-GC3	203	180
<u>BI3-GC2</u>	<b>167</b>	<b>361</b>	CHJ-GC3	<b>202</b>	<b>270</b>	<u>BI3-GC2</u>	<b>226</b>	<b>301</b>	CHJ-GC3	<b>258</b>	<b>214</b>
127-GC3	<b>105</b>	<b>154</b>	<u>GAV-GC3</u>	<b>221</b>	<b>308</b>	127-GC3	112	147	<u>GAV-GC3</u>	282	247
100-GC2	<b>168</b>	<b>250</b>	<u>PRO-GC1</u>	<b>349</b>	<b>426</b>	100-GC2	<b>170</b>	<b>248</b>	<u>PRO-GC1</u>	372	403
DMS G*N = 43						DMS G*S = 43					

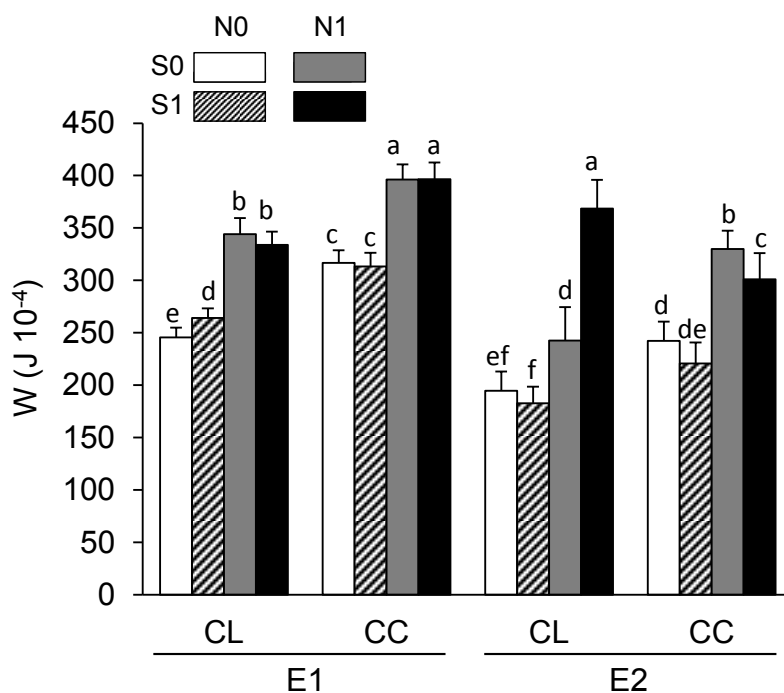


Figura 16: Promedio de fuerza panadera ( $W$ ) ( $J 10^{-4}$ ) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento.

En E1, el principal factor determinante de la relación P/L fue el G, mientras que en E2, fueron el nivel de S, el G y la interacción N\*S. Sin embargo, se observaron interacciones triples en ambos experimentos (Tabla 16). De esta manera, en E1, el 35 % de las variedades presentó estabilidad entre niveles de nutrientes y el 65 % restante respondió significativamente en al menos un tratamiento, generalmente en forma negativa. Por su parte, en E2, el 40 % de las variedades no respondió significativamente a la fertilización con respecto al testigo, mientras que el 40 % incrementó significativamente el P/L al fertilizar solo con N, y del 20 % restante, BI3 respondió negativamente a la fertilización con S en ambos niveles de N y 100 respondió positivamente al agregado de N y negativamente al de N y S. A su vez, el P/L promedio aumentó significativamente al fertilizar solo con N, siendo mayor la respuesta en los CL, y disminuyó al agregar S con ambos niveles de N en los CL y sólo con alto nivel de N en los CC (Tabla 18).

Tabla 18: Medias de relación P/L (P/L) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicado el grupo de calidad (GC), en ambos experimentos (E1, E2). Letras distintas indican diferencias significativas entre promedios dentro de cada experimento. Valores en negrita presentaron diferencias significativas con respecto al testigo dentro de cada genotipo. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Relación P/L									
Experimento 1									
Ciclo Largo					Ciclo Corto				
Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1	Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1
<u>304-GC1</u>	0,77	0,67	0,7	<b>0,44</b>	<u>601-GC1</u>	0,91	0,79	<b>0,57</b>	0,69
BI2-GC1	1,15	0,99	<b>0,81</b>	<b>0,72</b>	<u>801-GC2</u>	0,69	0,63	0,69	0,73
<u>BI3-GC2</u>	1,48	<b>0,95</b>	<b>0,74</b>	<b>0,7</b>	BI1-GC2	0,9	0,78	<b>1,2</b>	0,83
AGU-GC3	0,83	0,91	<b>0,58</b>	<b>0,58</b>	MEJ-GC1	0,92	0,93	0,82	<b>1,18</b>
CHC-GC2	0,64	0,74	0,52	0,52	CAS-GC2	0,86	1,04	<b>0,62</b>	0,64
LIQ-GC1	1,04	0,82	1,1	<b>0,7</b>	FLE-GC2	0,61	0,62	0,56	0,64
CAP-GC2	0,64	0,72	0,53	0,49	<u>PRO-GC1</u>	0,76	0,69	0,72	0,6
<u>GAV-GC3</u>	1,09	1,09	<b>0,7</b>	<b>0,8</b>	TAU-GC2	0,62	0,68	0,58	0,56
JAB-GC1	0,92	<b>0,67</b>	0,85	<b>0,6</b>	CHU-GC2	0,44	0,44	0,45	0,5
TOR-GC1	0,83	0,69	0,69	<b>0,55</b>	CON-GC1	1,68	<b>1,13</b>	<b>1,16</b>	<b>1,17</b>
DMS G*N*S=0,23									
Promedio	0,94a	0,83bc	0,72d	0,61e		0,84b	0,77bcd	0,74d	0,76cd
Experimento 2									
Ciclo Largo					Ciclo Corto				
Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1	Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1
<u>304-GC1</u>	0,58	0,51	<b>1,91</b>	0,51	<u>801-GC2</u>	0,95	0,84	1,67	0,6
<u>601-GC1</u>	1,76	1,11	<b>4,95</b>	0,78	FAS-GC3	0,62	0,64	<b>2,14</b>	0,45
<u>BI3-GC2</u>	2,48	<b>1,34</b>	3,24	<b>1,46</b>	CHJ-GC3	1,69	1,58	2,55	0,8
127-GC3	0,71	0,69	<b>2,89</b>	0,45	<u>GAV-GC3</u>	1,36	1,13	2,3	0,81
100-GC2	1,82	1,67	<b>5,27</b>	<b>0,74</b>	<u>PRO-GC1</u>	1,51	1,01	1,51	0,54
DMS G*N*S=1									
Promedio	1,47c	1,06cde	3,65a	0,79de		1,23cd	1,04cde	2,03b	0,64e

El principal determinante de la tenacidad (P) en E1 fue el G, mientras que en E2, fueron el G, el S, el N y la interacción N\*S. Por otro lado, los principales factores para la extensibilidad (L) en E1 fueron el G y el nivel de N, mientras que en E2, fueron el G, el nivel de S y la interacción N\*S (Tabla 16). La descripción de la influencia de los distintos factores y sus interacciones sobre P y L se resume en el análisis previo de la relación P/L. Sin embargo, de forma general, los valores promedio indican que en E1 la fertilización nitrogenada tendió a no afectar el P y a incrementar el L, mientras que en E2 tendió a incrementar notablemente el P y a disminuir el L cuando no se aplicó S y a no afectar el P e incrementar notablemente el L cuando se aplicó S. Por otro lado, la fertilización azufrada tendió a disminuir el P y a incrementar el L, principalmente en E2 (Fig. 17).



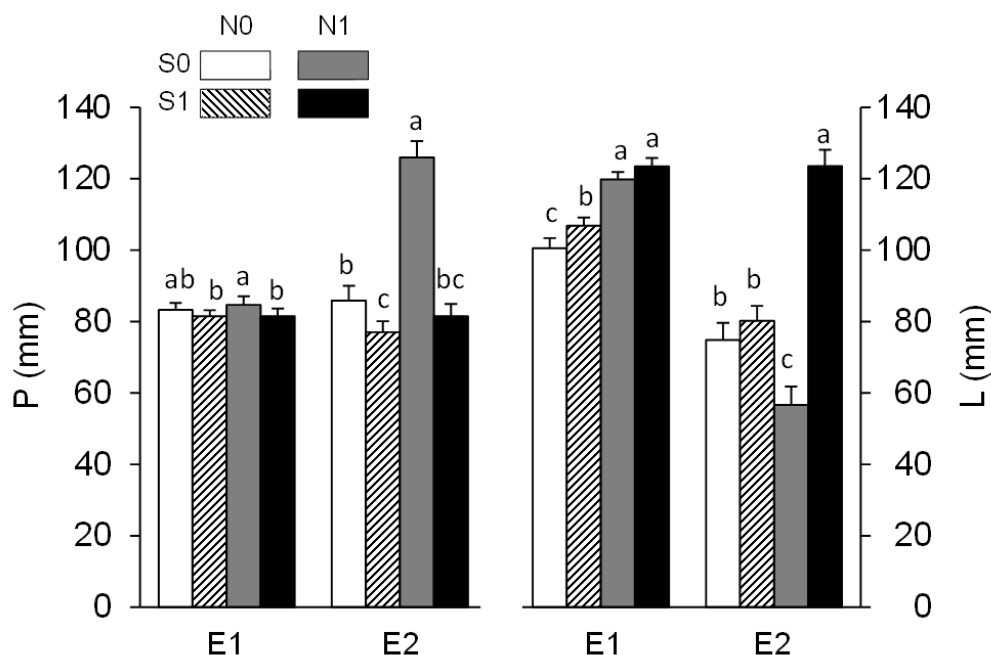


Figura 17: Promedios de tenacidad (P) (mm) y extensibilidad (L) (mm) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ambos ciclos en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada variable y experimento.

### 3.3.5 Análisis conjunto de la variación de la calidad panadera determinada por interacciones entre genotipo, fertilización y ambiente asociado a cada experimento

La Tabla 19 y la Fig. 18 muestran del Análisis de componentes principales (ACP) que incluyó parámetros de calidad para los distintos genotipos y tratamientos de fertilización en E1. Según la conformación de los CP, el eje X (CP1) indicó un aumento en el valor de variables asociadas con el contenido de proteína y la fuerza de gluten, el eje Y (CP2) un aumento del P y dos diagonales cruzadas que indicaron incrementos de W y L. Así, se pueden definir cuatro cuadrantes: arriba-izquierda (alto P, baja proteína y fuerza de gluten, bajo L y W intermedio), abajo-izquierda (bajo P, baja proteína y fuerza de gluten, L intermedio y bajo W), arriba-derecha (alto P, alta proteína y fuerza de gluten, L intermedio y alto W) y abajo-derecha (bajo P, alta proteína y fuerza de gluten, alto L y W intermedio).

En primer lugar, se observó un agrupamiento de los tratamientos según la disponibilidad de N en función del CP1, ubicándose aquellos fertilizados en los cuadrantes de alta proteína y fuerza de gluten (derecha) y los no fertilizados en los de baja proteína y fuerza de gluten (izquierda). Dentro de estos dos grupos, el principal factor discriminante fue el genotipo, determinando los valores de W y el balance entre P y L (arriba y abajo); y en menor medida la fertilización con S. En algunos genotipos pertenecientes al GC1, como es el caso de PRO, MEJ y 601, todos los tratamientos de fertilización se ubicaron en el cuadrante de alta proteína y fuerza de gluten (derecha); y para CHC, perteneciente al GC2, todos los tratamientos se ubicaron en el cuadrante de baja proteína y fuerza de gluten (izquierda). Los genotipos restantes siguieron la tendencia general de respuesta al agregado de N con diferencias en su magnitud. A su vez, los CL tendieron a presentar valores extremos negativos y los CC extremos positivos en el CP1 (Fig. 18).

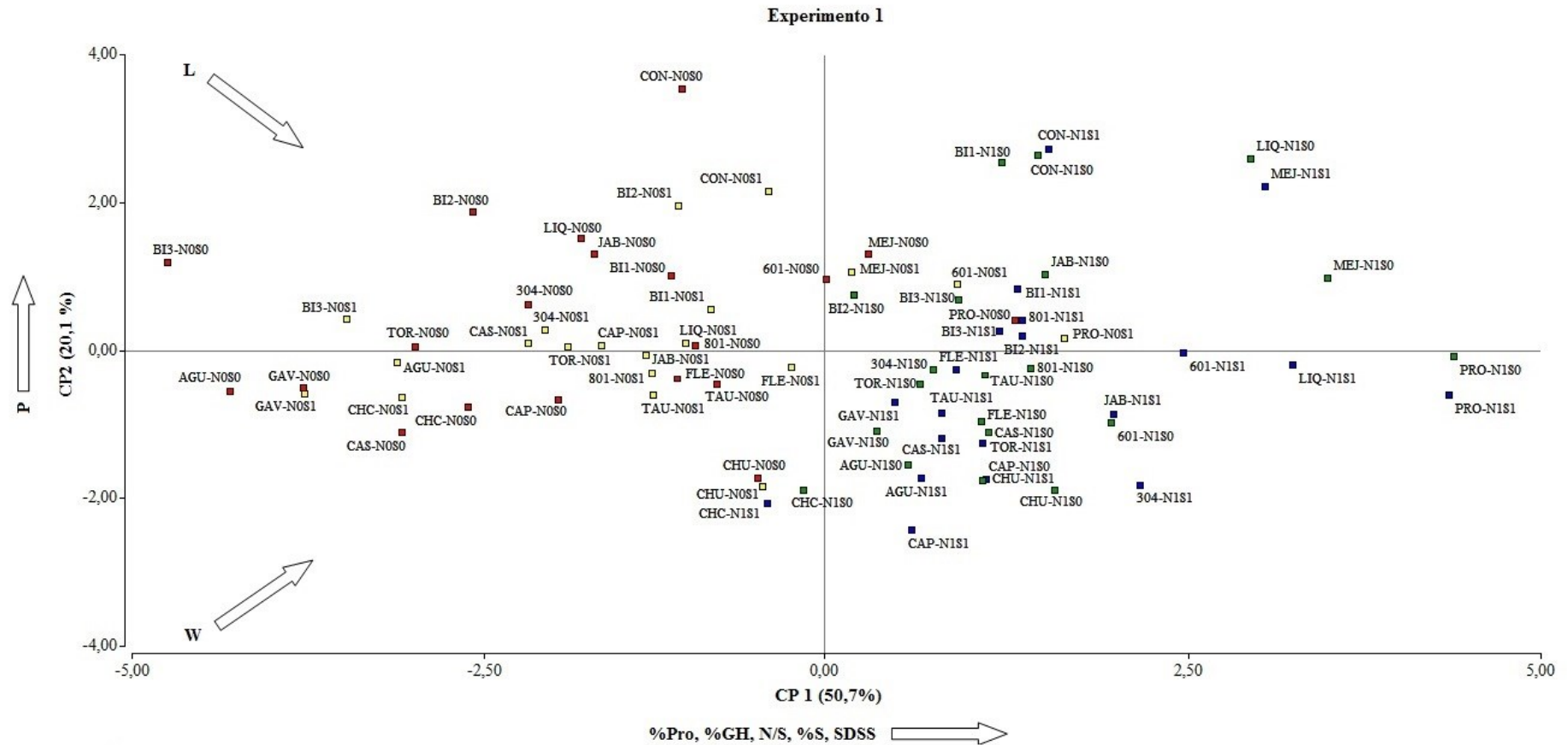


Figura 18: Efecto de la interacción entre genotipo y tratamiento de fertilización (N0S0: sin N y sin S, N0S1: sin N y con S, N1S0: con N y sin S, N1S1: con N y con S) sobre contenido de proteína (%Pro), contenido de gluten (%GH), contenido de S en grano (%S), relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad (L) y asociación entre dichas variables en el experimento 1 (E1). Rojo: N0S0, Amarillo: N0S1, Verde: N1S0, Azul: N1S1. Se muestra la proporción de los autovalores en cada uno de los ejes y los autovectores en la Tabla 11.

Tabla 19: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 18.

Variables	CP1	CP2
W	0,40	0,41
P	0,14	0,73
L	0,35	-0,37
%Pro	0,47	-0,12
%GH	0,44	-0,23
%S	0,26	-0,13
SDSS	0,26	0,28
N/S	0,37	-0,04

La Fig. 19 y la Tabla 20 muestran la conformación del ACP para E2, observando que el eje X (CP1) indicó un aumento en la fuerza panadera (W, SDSS), el eje Y (CP2) un aumento del P asociado a la N/S y dos diagonales cruzadas que indicaron incrementos de %GH asociado al %Pro y del L asociado al %S. Así, se pueden definir cuatro cuadrantes: arriba-izquierda (alto P, baja fuerza panadera, bajo L y proteína intermedia), abajo-izquierda (bajo P, baja fuerza panadera, baja proteína y L intermedio), arriba-derecha (alto P, alta fuerza panadera, alta proteína y L intermedio) y abajo-derecha (bajo P, alta fuerza panadera, proteína intermedia y alto L). La conformación de los mismos difirió entre experimentos debido a diferencias en las asociaciones entre variables.

En general, se observó un agrupamiento de los tratamientos en el CP1, ubicándose aquellos fertilizados con N y S en los cuadrantes de alta fuerza panadera (derecha) y los no fertilizados y fertilizados solo con N y solo con S en los cuadrantes de baja fuerza panadera (izquierda). Sin embargo, para los genotipos 304 y PRO, ambos pertenecientes al GC1 y de distinto ciclo, todos los tratamientos de fertilización se ubicaron dentro de los cuadrantes de alta fuerza panadera (derecha). A su vez, se observó un agrupamiento de los tratamientos en el CP2, ubicándose aquellos fertilizados solo con N en los cuadrantes de alto P y N/S (arriba) y los restantes de manera opuesta (abajo), independientemente de la fuerza panadera. Así, el agregado de N incrementó el %Pro y el %GH en general, pero solo mejoró la fuerza panadera al combinarlo con S. De esta manera, todos los genotipos respondieron notablemente al agregado de S con alto nivel de N pero con diferente magnitud. Por otro lado, los CL presentaron una mayor disminución del L y del %S al fertilizar solo con N que los CC, a excepción de 304 y PRO (Fig. 19).

Tabla 20: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 19.

Variables	CP1	CP2
W	0,42	0,19
P	0,00	0,53
L	0,42	-0,28
%Pro	0,41	0,31
%GH	0,41	0,30
%S	0,41	-0,30
SDSS	0,37	-0,13
N/S	-0,07	0,56

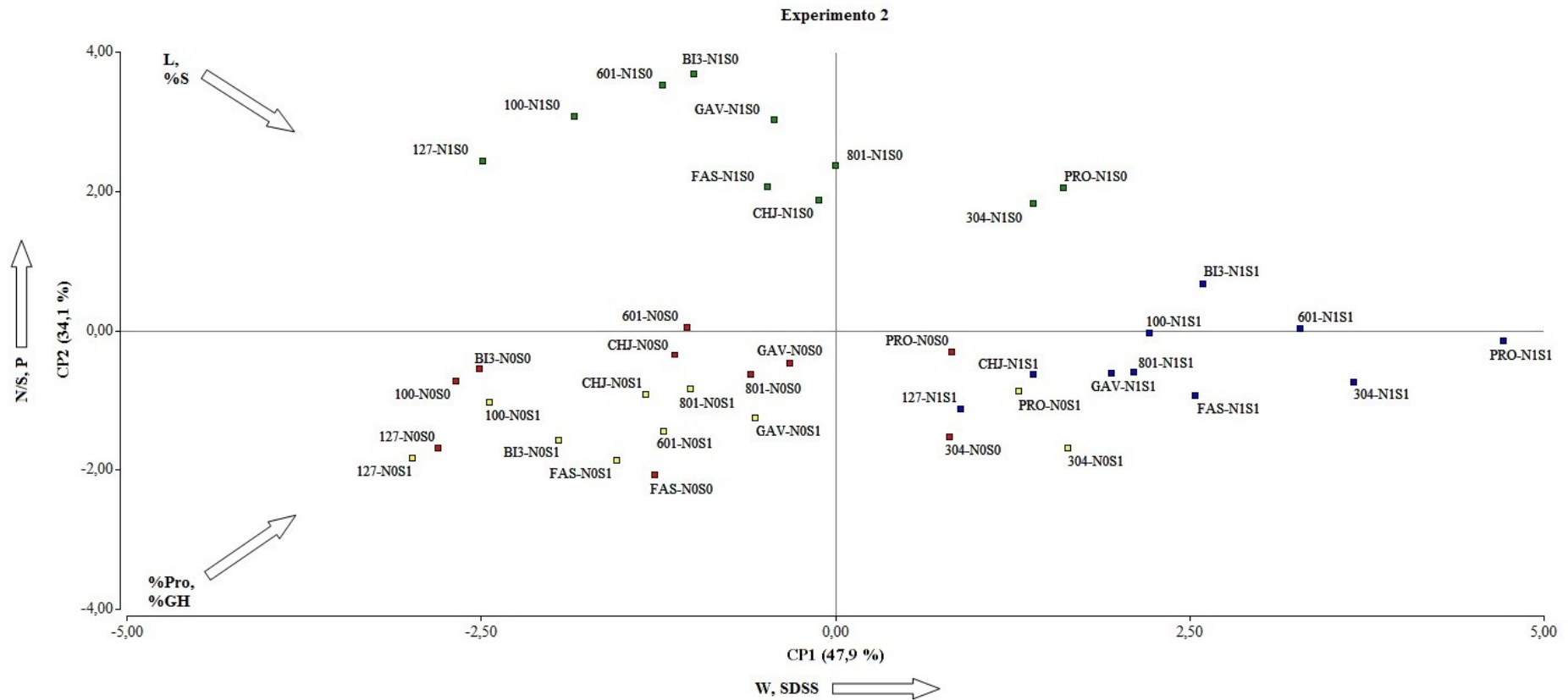


Figura 19: Efecto de la interacción entre genotipo y tratamiento de fertilización (N0S0: sin N y sin S, N0S1: sin N y con S, N1S0: con N y sin S, N1S1: con N y con S) sobre contenido de proteína (%Pro), contenido de gluten (%GH), contenido de S en grano (%S), relación entre los contenidos de N y S en grano (N/S), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P) y extensibilidad (L) y asociación entre dichas variables en el experimento 2 (E2). Rojo: N0S0, Amarillo: N0S1, Verde: N1S0, Azul: N1S1. Se muestra la proporción de los autovalores en cada uno de los ejes y los autovectores en la Tabla 12.

### 3.3.6 Asociación entre atributos de calidad

Al analizar la correlación entre atributos de calidad para todos los genotipos, tratamientos de fertilización y experimentos se encontró una asociación significativa y positiva del W con las variables: SDSS, %Pro, %GH, L y P. A su vez, el SDSS correlacionó positivamente con el L y el W, siendo reducido el grado de correlación con el %Pro y el %GH. En cuanto a los determinantes del W, el P se asoció de manera negativa con el L; y el L se asoció positivamente con el SDSS, el %GH y el %Pro (Tabla 21).

Tabla 21: Matriz de coeficientes de correlación de Pearson (r) y probabilidades (p-valor) entre fuerza panadera (W), tenacidad (P), extensibilidad (L), contenido de proteína en grano (%Pro), contenido de gluten húmedo (%GH) y volumen de sedimentación (SDSS) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

	W	P	L	%Pro	%GH	SDSS
W	1	***	***	***	***	***
P	0,42	1	***	***	*	ns
L	0,51	-0,48	1	***	***	***
%Pro	0,55	0,24	0,36	1	***	*
%GH	0,54	0,13	0,45	0,90	1	**
SDSS	0,60	-0,10	0,62	0,11	0,19	1

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$

Al analizar los experimentos por separado, el %Pro explicó en ambos casos alrededor del 40 % ( $p < 0,0001$ ) de la variación en W, debida al efecto del ciclo, el genotipo y los tratamientos de fertilización. Sin embargo, se observó una mayor dispersión de los datos en E2, principalmente de los tratamientos fertilizados con N que presentaron amplios rangos de W para valores similares de %Pro (Fig. 20).

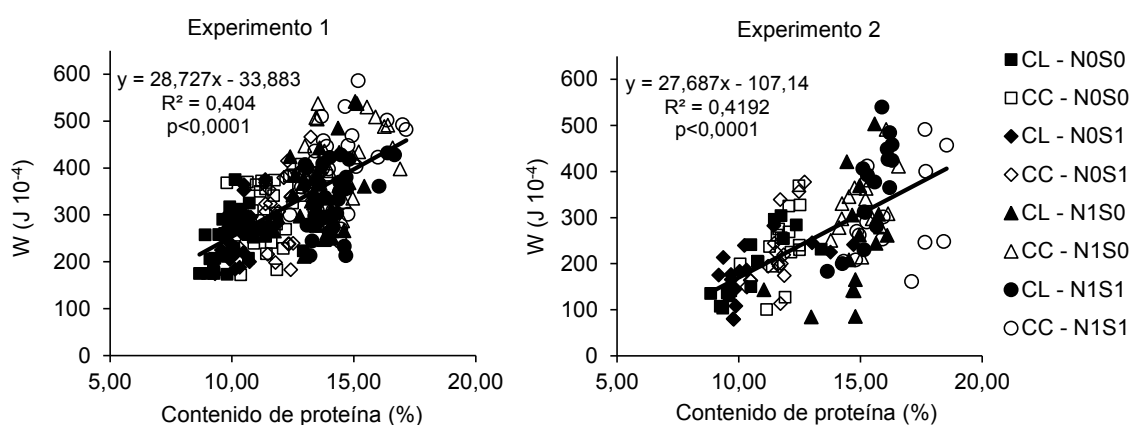


Figura 20: Relación entre la fuerza panadera (W) y el contenido de proteína en grano (%Pro) en el experimento 1 (E1) y experimento 2 (E2) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC).

En E1, los patrones de respuesta promedio del W y el %Pro a los tratamientos de fertilización fueron similares entre sí, observándose un claro efecto del nivel de N independientemente del nivel de S, y sin mayores diferencias entre ciclos a excepción del leve efecto del S con bajo nivel de N registrado únicamente en los CL. En cambio,

en E2, se observaron claras diferencias en los patrones de respuesta promedio a la fertilización de ambas variables y variaciones entre ciclos. Para los CL, el agregado de N con bajo nivel de S produjo un incremento de mayor magnitud en el %Pro y el agregado de S con alto nivel de N produjo un incremento de mayor magnitud en el W. En cambio, para los CC, el agregado de S con alto nivel de N generó una disminución del W pese a que el %Pro aumentó. A su vez, se observó mayor variabilidad de ambos parámetros en E2 (Fig. 21).

Los valores promedio del cociente entre el W y el %Pro ( $W/\%Pro$ ) fueron de 26 y 19,3 para E1 y E2, respectivamente. A su vez, la media de los CC fue significativamente mayor que la de los CL, tanto en E1 ( $CL=24,7$  b;  $CC=27,2$  a) como en E2 ( $CL=18,7$  b;  $CC=19,9$  a). Por otro lado, no se observaron mayores diferencias entre tratamientos de fertilización en E1, pero si en E2, con diferencias entre ciclos. Así, el valor promedio de  $W/\%Pro$  del tratamiento N1S1 fue significativamente mayor que el de los restantes en los CL, y menor que el de N1S0 en los CC (Fig. 21).

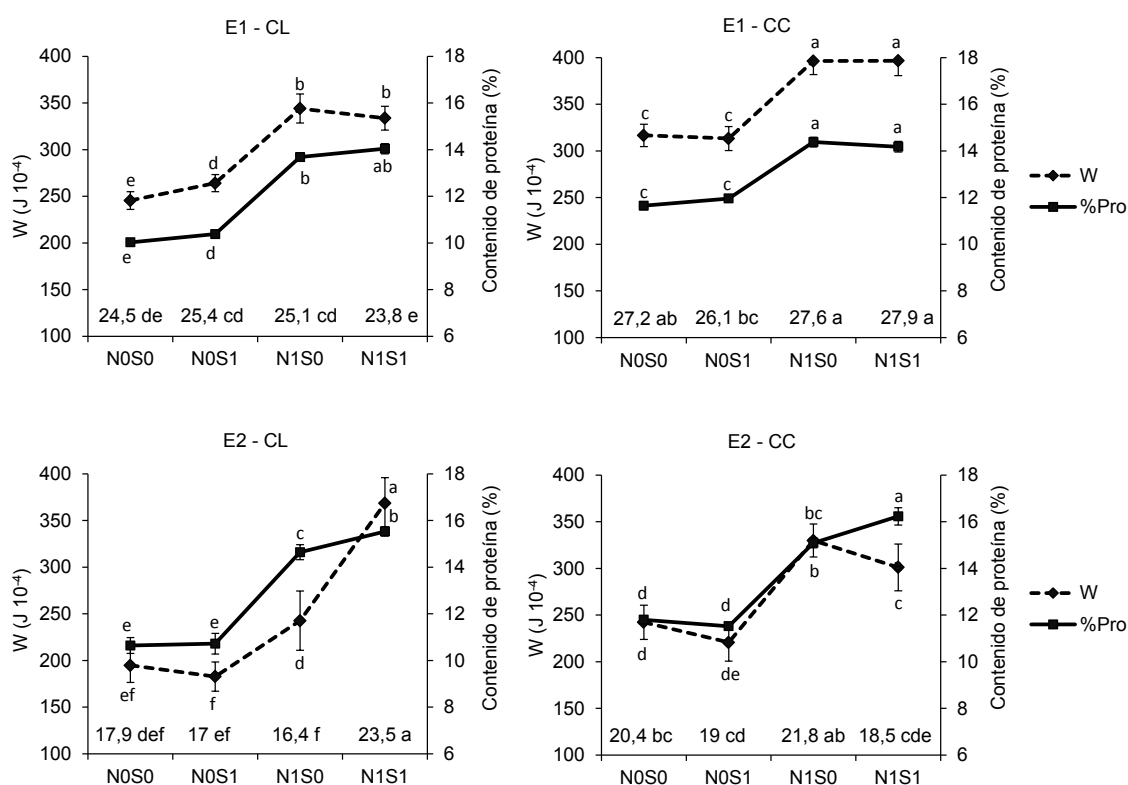


Figura 21: Promedio de fuerza panadera (W) y contenido de proteína en grano (%Pro) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2). Los números en el gráfico indican el promedio del cociente entre fuerza panadera y contenido de proteína en grano ( $W/\%Pro$ ) para cada tratamiento. Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento. El ANOVA y la comparación de medias para contenido de proteína en grano (%Pro) se realizaron sobre los datos transformados a raíz cuadrada.

El SDSS explicó mediante un modelo exponencial el 32,4 % en E1 y el 42,4 % en E2 de la variación en W, debida al efecto del ciclo, el genotipo y los tratamientos de fertilización. Se encontró una mayor concentración de datos en valores elevados de SDSS en E1, mientras que se observó mayor variabilidad en E2. A su vez, se observó

gran dispersión dentro de cada tratamiento y una tendencia de los tratamientos CC-N1S0 a presentar valores de W elevados con bajos SDSS en E2 (Fig. 22).

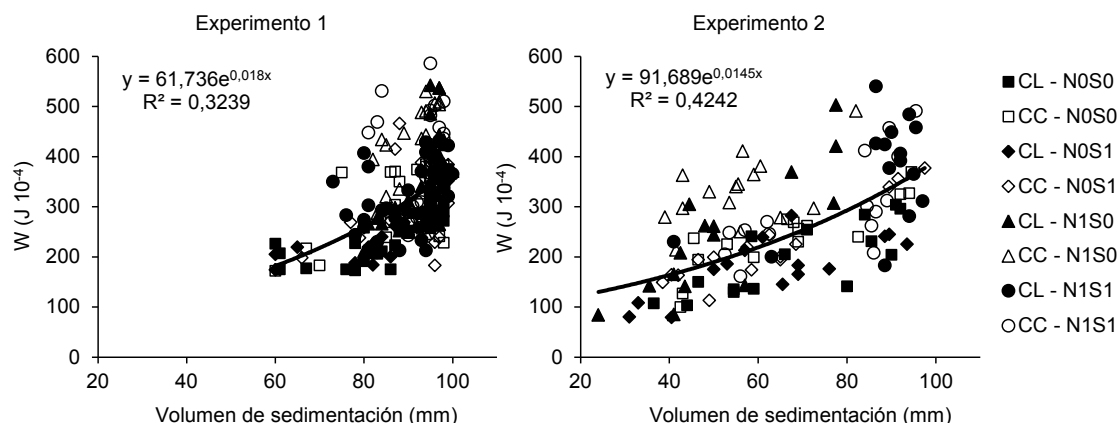


Figura 22: Relación entre la fuerza panadera (W) y el volumen de sedimentación (SDSS) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en el experimentos 1 (E1) y 2 (E2).

Con el objetivo de mejorar la capacidad de predicción del W en base al SDSS, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple incluyendo otros atributos de calidad posibles de medir en etapas tempranas de selección de genotipos, es decir con muestras reducidas (SDSS, %Pro, %S, N/S). Así, el método de selección Stepwise arrojó un modelo significativo compuesto por las variables SDSS y %Pro que mejoró el  $R^2$  a 0,60 (Tabla 22).

Tabla 22: Modelo de regresión lineal múltiple (Stepwise) que estima la fuerza panadera (W) en función del volumen de sedimentación (SDSS) y el contenido de proteína (%Pro) para todos los tratamientos de fertilización de los genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

$$W = -234,66 + 3,08 \text{ SDSS} + 22,37 \% \text{Pro}$$

$$R^2 = 0,60; p_{\text{const}} < 0,0001; p_{\text{SDSS}} < 0,0001; p_{\% \text{Pro}} < 0,0001$$

### 3.3.7 Relación entre parámetros de calidad y determinantes del rendimiento

La Tabla 23 y la Fig. 23 muestran el ACP que incluyó rendimiento, sus componentes y parámetros de calidad industrial para el efecto genotípico en ambos experimentos. Según la conformación de los CP, el eje X (CP1) indicó un aumento en el rendimiento y sus componentes y el eje Y (CP2) un aumento del W asociado al %GH. A su vez, se formaron tres diagonales que indicaron incrementos del SDSS (a favor del rendimiento y el W), del %Pro (opuesto al rendimiento y a favor del W) y del P/L (opuesto al SDSS, el W y el rendimiento). Así, se pueden definir cuatro cuadrantes: arriba-izquierda (buena calidad panadera y bajo rendimiento), abajo-izquierda (mala calidad panadera y bajo rendimiento), arriba-derecha (buena calidad panadera y alto rendimiento) y abajo-derecha (mala calidad panadera y alto rendimiento).

Se observó una primera agrupación por experimentos, ubicándose los 10 genotipos de E2 en los cuadrantes de bajo rendimiento (izquierda) y dentro de estos, 8 se ubicaron en el cuadrante de mala calidad panadera y 2 (304 de CL y PRO de CC) en el de buena calidad. De E1, solo CAS se ubicó en el cuadrante de mala calidad panadera

y bajo rendimiento, distribuyéndose los 19 genotipos restantes en los demás cuadrantes, principalmente en los de alto rendimiento. En estos últimos, los CL tendieron a presentar menor calidad panadera que los CC. Por otro lado, de los genotipos presentes en ambos experimentos (BI3, 304, 601, 801, GAV, PRO), todos presentaron cambios en los cuadrantes a excepción de PRO que se ubicó en el de buena calidad panadera y bajo rendimiento en E1 y E2 (Fig. 23).

No se encontró un claro agrupamiento por GC para el rendimiento y la calidad. Sin embargo, se encontraron genotipos de todos los GC en los cuadrantes de mala calidad panadera y solo de los GC 1 y 2 en los de buena calidad (Fig. 23).

Tabla 23: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 23.

Variables	CP1	CP2
R	0,56	-0,06
NG	0,38	-0,08
PMG	0,28	0,02
W	0,18	0,53
P/L	-0,28	-0,29
SDSS	0,39	0,42
%Pro	-0,38	0,43
%GH	-0,23	0,51



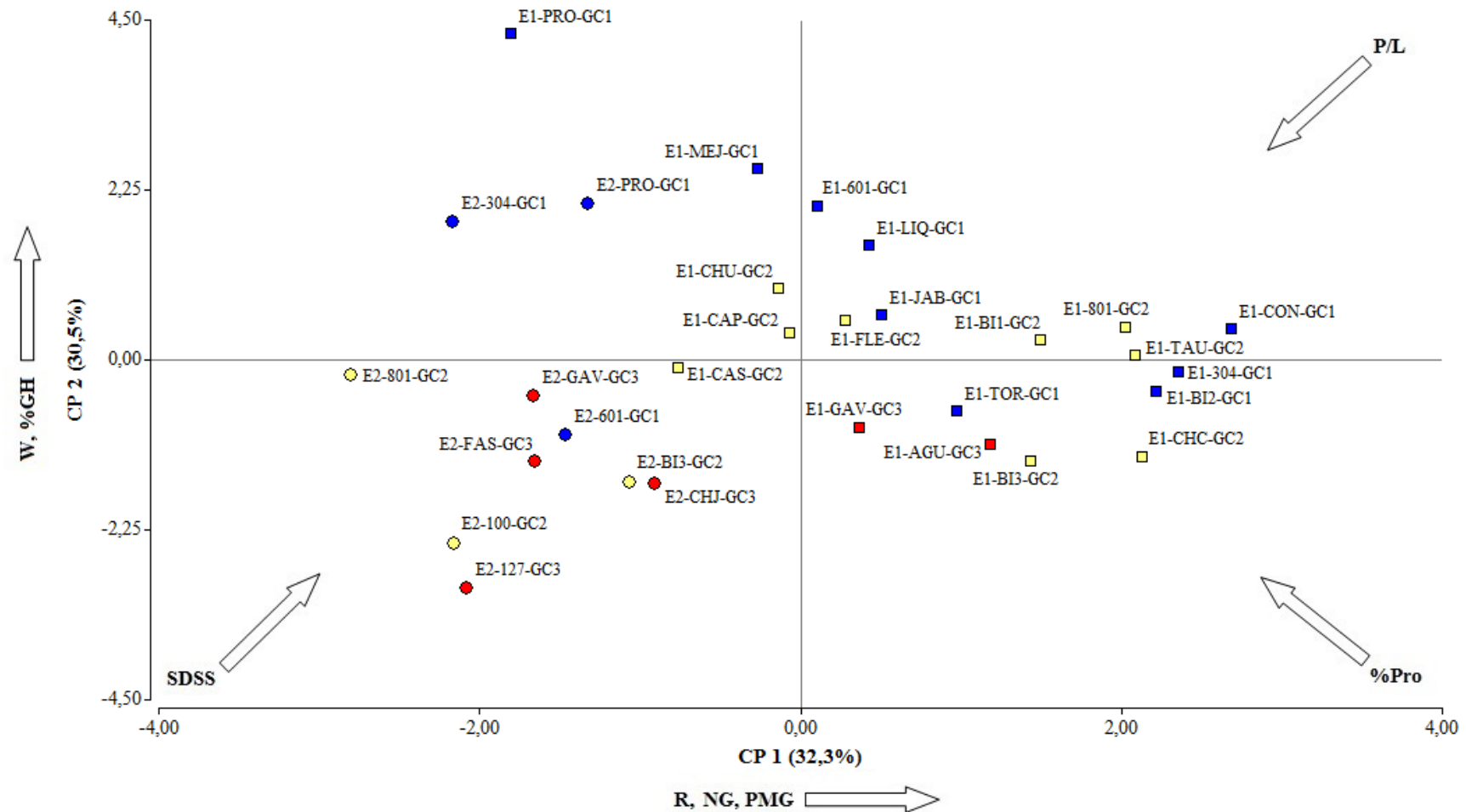


Figura 23: Efecto de la interacción entre grupo de calidad (GC) dependiente del genotipo y ambiente asociado a cada experimento (E1, E2) sobre rendimiento (R), número de granos por m<sup>2</sup> (NG), peso de mil granos (PMG), contenido de proteína (%Pro), contenido de gluten (%GH), volumen de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W) y relación P/L (P/L) y asociación entre dichas variables. Cuadrados: E1, Círculos: E2. Azul: GC1, Amarillo: GC2, Rojo: GC3. Se muestra la proporción de los autovalores en cada uno de los ejes y los autovectores en la Tabla 23.

### 3.4 DISCUSIÓN

En el presente capítulo se analizó la incidencia de la fertilización nitrogenada y azufrada sobre parámetros de calidad industrial y su relación con los componentes del rendimiento y los contenidos de N y S en los granos en un grupo numeroso de genotipos de trigo pan de distinto ciclo, planteando experimentos durante dos campañas en ambientes con diferente manejo y fertilidad de suelo en la ciudad de Azul, Buenos Aires.

La relación N/S presentó valores levemente mayores en E1, sin embargo el rango fue más amplio en E2, evidenciando una mayor limitación de fertilidad en este último. En ambos experimentos se encontraron valores notablemente inferiores y superiores al umbral de deficiencia de S ( $N/S > 17$ ) propuesto por Randall *et al.* (1981) para rendimiento y posteriormente por Wrigley *et al.* (1984) para calidad. Los rangos observados fueron más amplios que los reportados por Zhao *et al.* (1999) para trigo pan en Inglaterra y por Ercoli *et al.* (2011) para trigo candeal en Italia, principalmente en los valores superiores. El agregado de N incrementó la N/S y resultó una FV principal en ambos experimentos. En E1 el efecto del S fue no significativo y adquirieron importancia el G y sus interacciones con el N y el S, mientras que en E2 lo hicieron el S y su interacción con el N (Fig 14 y Tabla 11). Esto es similar a lo encontrado para R y pudo deberse a la menor disponibilidad de nutrientes a la siembra y consecuentes mayores respuestas a la fertilización en E2. De la misma manera, Thomason *et al.* (2007) solo encontraron un efecto significativo del S sobre la N/S en 1 de 5 ambientes de la región del Atlántico medio húmedo. A su vez, la ausencia de respuesta al S en E1 coincide con lo reportado por Orman y Ok (2012) para trigo pan en un experimento en macetas con suelo franco arcillo calcáreo. En cambio, los efectos significativos del S y N\*S en E2 acuerdan con lo observado por Flaete *et al.* (2005) también en macetas.

El %Pro presentó valores promedio levemente superiores en E2, pero con rangos de similar magnitud. Las FV significativas coincidieron entre experimentos, a excepción de la interacción N\*S que solo lo fue en E2. Con respecto a esto último, la respuesta al agregado de S presente solo con alto nivel de N pudo deberse a la menor disponibilidad de S en dicho ambiente y la consecuente deficiencia inducida por la fertilización nitrogenada. El N resultó la principal FV en todos los experimentos, registrándose respuestas a la fertilización de mayor magnitud en el ambiente de menor fertilidad (E2). Por otro lado, el %Pro fue significativamente mayor en los CC en ambos experimentos y niveles de N, cuyas posibles causas fueron discutidas para el %N en el capítulo anterior. Sin embargo, las variaciones entre ciclos fueron de menor magnitud en los tratamientos fertilizados con N, coincidiendo parcialmente con lo observado por Altenbach *et al.* (2003), quienes encontraron que la aplicación de fertilizante en post-antesis redujo la variación en %Pro entre plantas que crecieron bajo distintos regímenes de temperatura. Es de destacar que los valores promedio de los tratamientos sin agregado de N en los CL fueron inferiores al valor base de %Pro (11 %) según la Norma de comercialización de trigo pan en Argentina (Norma XX, Res. 1262/2004), mientras que en los CC fueron superiores en ambos experimentos. En cuanto a la interacción G\*N, la misma fue de tipo cuantitativa en todos los ambientes, reflejando diferencias genotípicas en la capacidad de acumulación de proteína en los granos (Tabla 13 y Fig. 15). Por último, el efecto principal del S fue leve pero significativo en ambos experimentos, coincidiendo con lo reportado por Fontanetto *et al.* (2003) en 1 de 2 sitios de la región central de Santa Fe y por Thomason *et al.* (2007) en 2 de 3 sitios dependiendo probablemente del nivel de S residual y la capacidad de retención del nutriente de cada suelo. Otros autores no encontraron respuestas al agregado de S en %

Pro, tal como Zhao *et al.* (1999) en 6 de 7 ambientes de Inglaterra, Reussi Calvo *et al.* (2006) en condiciones de secano en lotes con prolongada historia agrícola y suelos sin limitantes de tosca hasta los 70 cm de profundidad, y Herrera *et al.* (2012) en suelos de Chile con alto contenido de materia orgánica.

Las FV significativas para %GH fueron similares a las observadas para %Pro en ambos experimentos, a excepción de las interacciones C\*S y C\*N\*S en E1 comentadas anteriormente (Tablas 12 y 13). Con respecto a esto, el método utilizado en este experimento mide directamente el contenido de gluten, pudiendo presentar mayor sensibilidad que el utilizado en E2. Por otro lado, la estrecha relación entre ambas variables es predecible debido a que la fracción proteica soluble en agua representa aproximadamente el 2 % de la harina, siendo relativamente constante; y a medida que el contenido proteico aumenta, la fracción adicional aparece como proteínas de reserva (gliadinas y gluteninas), las cuales forman gluten (MacRitchie, 1984). En acuerdo con lo anterior, Ferraris (2013) observó una asociación positiva entre el %Pro y el %GH ( $R^2=0,86$ ).

El SDSS presentó valores promedio superiores en E1 para ambos ciclos, estando esto atribuido a menores registros en el rango inferior para E2. Esto evidencia el efecto de la deficiencia nutricional de dicho ambiente sobre la fuerza del gluten. Pese a estas diferencias, el G resultó la principal FV en ambos experimentos. Esto es esperable según lo reportado por Axford *et al.* (1979), Dick y Quick (1983) y Carrillo *et al.* (1990), quienes califican el test como prácticamente independiente de las condiciones ambientales, ya que está estrechamente vinculado al patrón genético de proteínas que componen el gluten de cada cultivar. Sin embargo, se observaron efectos significativos de la disponibilidad de nutrientes y distintas interacciones, adquiriendo importancia por su %SC el nivel de N y G\*N en E1 y el nivel de S y N\*S en E2 (Tabla 14). De esta manera, se encontraron cultivares estables entre niveles de nutrientes y otros con distintos tipos de respuesta. Esto coincide con lo reportado por Mikhaylenko *et al.* (2000) y Lerner y Ponzio (2004), quienes encontraron cultivares cuya respuesta es más independiente del ambiente que otros. En el segundo caso reportaron cambios significativos del SDSS en distinto sentido de algunos cultivares al contrastar dos niveles de N, los cuales se eliminaron en la mayor parte de los casos al recalcular los volúmenes de sedimentación a proteína constante, sugiriendo que el contenido de proteína no debería ser menor a 11 % para que el SDSS funcione como indicador de la calidad intrínseca de cada cultivar. Para E2 en particular, dicho parámetro respondió positivamente a la fertilización azufrada con alto nivel de N, a la vez que respondió negativamente a la fertilización nitrogenada sin agregado de S. Esto evidencia el impacto de la deficiencia de S sobre la fuerza del gluten, inducida por alta disponibilidad de N en un ambiente de baja fertilidad. En este caso, dicho efecto no sería explicado por variaciones en el %Pro, ya que el valor promedio para N1S0 fue significativamente superior al de N0S0 y N0S1 (Fig. 15 y Tabla 8). Incluso dicho valor superó notablemente el umbral de 12 %, sobre el cual se reportaron mayores valores de SDSS, según autores que reconocen la influencia del %Pro sobre dicho parámetro (Mikhaylenko *et al.*, 2000). Otros autores también reportaron efectos significativos del S, como son Luo *et al.* (2000) solo con alto nivel de N; Flaete *et al.* (2005) dependiendo del nivel de N y momento de aplicación; y Ercoli *et al.* (2011) aunque sin interacciones con la variedad, el año y el N. Por el contrario, Herrera *et al.* (2012) no encontraron cambios significativos del SDSS al fertilizar con S. Por otro lado, la respuesta al S en dicho ambiente fue de mayor magnitud en los CL, evidenciando lo ya discutido sobre el rol de la mineralización como aporte de nutrientes en los CC, debido a una mayor temperatura en estados tempranos del cultivo (Tabla 15).

En forma similar al SDSS, el W presentó valores promedio superiores en E1 para ambos ciclos. Las diferencias se debieron a menores registros, en el extremo inferior para los CL y en ambos extremos para los CC, en E2. Nuevamente, esto demuestra el efecto de la deficiencia nutricional de dicho ambiente sobre la fuerza panadera, sin observarse grandes cambios en la calidad potencial. Con respecto a la relación P/L, que describe la conformación de la curva del alveograma y determina el equilibrio de la masa, sus promedios fueron superiores en E2 para ambos ciclos. Esto significa que las masas fueron más tenaces en este ambiente. Al analizar los efectos dentro de cada experimento, se encontró que el G y el nivel de N fueron las principales FV para W, exhibiendo %SC semejantes incluso en ambientes contrastantes. Sin embargo, se observó una mayor complejidad en las FV secundarias en E2 debido al mayor número de interacciones significativas. Para el caso del N, las respuestas promedio a la fertilización fueron mayores en E2 (E1=29 %, E2=48 %), siendo esperable por lo ya comentado sobre la fertilidad inicial de cada sitio. A su vez, la interacción G\*N fue de tipo cuantitativa en la mayor parte de los casos (solo CAP no respondió en E1), observando respuestas positivas de diferente magnitud. Para el caso del S, el efecto principal fue significativo solo en E2, y generó cambios en distinto sentido al considerar las interacciones con el N, el C y el G (Tabla 17). De esta manera, en E2 la fertilización azufrada con alto nivel de N incrementó el W en los CL y lo disminuyó en los CC (Fig. 16). Sin embargo, en ambos casos la relación P/L disminuyó significativamente con el mismo tratamiento, corrigiendo el desequilibrio generado en la reología de las masas debido a la deficiencia de S (inducida por la fertilización nitrogenada). Esto último fue menos acentuado en los CC, probablemente a causa de lo discutido sobre el aporte de nutrientes por mineralización (Tabla 18). También se debe tener en cuenta la mayor temperatura registrada durante el llenado de granos debido al atraso en la floración de los CC, que generó una disminución en el PMG. Esto afectó claramente la estructura del grano y pudo incidir en la calidad industrial del mismo. En tal respecto, Wrigley *et al.* (1994) encontraron que elevadas temperaturas durante el período de llenado produjeron menor PMG y mayor %Pro. A su vez, DuPont *et al.* (2006a) hallaron que elevada temperatura en post-floración generó harinas de alto contenido proteico, sin afectar el volumen de pan pero con menor tolerancia al mezclado. Con respecto a los determinantes del P/L, los desbalances generados por la deficiencia de S inducida por alto nivel de N fueron explicados por un incremento significativo del P y una disminución del L. La fertilización con S corrigió esto debido a una disminución del P y un incremento más que proporcional del L (Fig. 17). En acuerdo con esto, varios autores reportaron que los cambios en la composición de las proteínas del gluten al fertilizar con S resultan en una reducción de la resistencia a la extensión y un incremento en la extensibilidad de la masa, reduciendo la energía requerida durante el amasado y mejorando la calidad panadera (Wooding *et al.*, 2000a, b; Flaete *et al.*, 2005; Zörb *et al.*, 2009). A diferencia de la interacción G\*N, la G\*S para W fue de tipo cualitativa en ambos experimentos, encontrando genotipos estables en mayor proporción y otros con respuestas en distinto sentido. Dentro de estos últimos, se destacó el cultivar 601 que presentó una respuesta positiva en todos los ambientes (Tabla 17). En acuerdo con lo anterior, Luo *et al.* (2000) encontraron que la variación en parámetros de calidad de trigo resultó en mayor medida de diferencias genotípicas, aunque la interacción entre la fertilización nitrógeno-azufrada y el genotipo también resultó significativa, logrando identificar dos cultivares de buena calidad recomendados para ambientes específicos y tres cultivares más estables en ambientes diversos. Por último, el efecto principal del S resultó no significativo en E1, coincidiendo con lo reportado por Herrera *et al.* (2012), quienes no encontraron respuestas a la fertilización

azufrada en la calidad industrial de trigo pan en suelos chilenos con alto contenido de materia orgánica y sin aplicación de N.

Al analizar en conjunto la variación de la calidad panadera asociada a interacciones entre genotipo, fertilización y ambiente se encontró que la conformación de los ACP difirió entre experimentos. Esto determinó cambios en las asociaciones entre las distintas variables que definen la calidad industrial y diferencias en los criterios de agrupamiento entre genotipos y tratamientos de fertilización. En E1, los principales agrupamientos se debieron al efecto del G y el nivel de N, siendo de poca magnitud los cambios debidos al S. La N/S se asoció positivamente con atributos de calidad panadera, mostrando al N como principal limitante en este ambiente. Los cultivares exhibieron diferencias en la magnitud de las respuestas a la fertilización nitrogenada. Sin embargo, todos los tratamientos de fertilización para los cultivares PRO, MEJ y 601, pertenecientes al GC1, se ubicaron en el grupo de elevada proteína y fuerza de gluten, evidenciando estabilidad entre niveles de nutrientes y elevado potencial de calidad panadera. Por el contrario, CHC (GC2) se ubicó en el grupo de baja proteína y fuerza de gluten en todos los casos. A su vez, no se observó un claro agrupamiento por ciclos, aunque los CL presentaron valores extremos negativos y los CC positivos, siendo los motivos previamente discutidos (Fig. 18). Por otro lado, en E2, se observaron agrupamientos debidos a los efectos del N y el S. En este caso, el grupo de elevada fuerza panadera estuvo integrado principalmente por los tratamientos de fertilización combinada, mientras que los restantes tendieron a presentar menor calidad. Dentro de estos últimos, los tratamientos fertilizados solo con N formaron un grupo con alto contenido proteico asociado a un excesivo P y bajo L; mientras que los tratamientos sin fertilización y fertilizados solo con S formaron otro grupo con valores reducidos de proteína y P. De esta manera, la N/S se asoció positivamente con el P y negativamente con el L, siendo independiente de la fuerza panadera. Esto demuestra la deficiencia de S en este ambiente, y su importancia como determinante del equilibrio de las masas. Con respecto a las interacciones, se detectaron diferencias en las respuestas ante cambios en los niveles de N y S entre genotipos y ciclos. Así, el impacto negativo de la deficiencia de S inducida por la fertilización con N fue más evidente en los CL, siendo coherente con lo anteriormente discutido. A su vez, los genotipos 304 y PRO presentaron elevada fuerza panadera para todos los tratamientos de fertilización, encontrando nuevamente un grupo con estabilidad y alto potencial de calidad (Fig. 19). Cabe aclarar que PRO integró el mismo grupo en E1, mostrando estabilidad entre ambientes contrastantes.

Según lo anterior, las jerarquías entre los factores que definieron la calidad del grano difirieron entre ambientes, coincidiendo con lo encontrado por otros autores en diferentes experimentos donde se evaluó la interacción G x A. Para un grupo de variedades de trigo pan argentinos, Frascina *et al.* (2007) reportaron que el ambiente (localidad y año) resultó altamente significativo, y también resultó significativo el grupo de calidad en la mayoría de las variables de calidad industrial. Por otro lado, Vázquez *et al.* (2012) encontraron una gran variabilidad en la mayoría de los atributos de calidad evaluados en una amplia colección de cultivares latinoamericanos, con rangos más amplios entre ambientes que entre genotipos, incluso para los parámetros previamente reportados como más influenciados por el genotipo. Por el contrario, Ercoli *et al.* (2011) reportaron que las diferencias en los parámetros de calidad entre genotipos de trigo candeal se mantuvieron entre años con precipitaciones contrastantes, indicando que dichos caracteres se encuentran bajo un fuerte control genético. A su vez, mostraron que el N afectó por igual el rendimiento en grano y sus parámetros de calidad, mientras que el S tuvo un efecto más consistente sobre estos últimos. Por otro lado, Lerner *et al.* (2013) encontraron que la extensibilidad de las masas en trigo pan resultó altamente

dependiente del N, por lo que genotipos con alta estabilidad en eficiencia de recuperación y eficiencia agronómica del nutriente presentaron menor variación en los valores de dicho parámetro alveográfico entre años, aún cuando la distribución de las precipitaciones en las campañas consideradas fue muy diferente.

Al analizar la correlación entre atributos de calidad para el conjunto total de datos se encontró que la fuerza panadera se asoció positivamente con el contenido de proteína y gluten (Tabla 21). Cuando se realizaron las regresiones por experimentos, el %Pro explicó cerca del 40 % de la variación en W; lo cual demuestra la importancia de la composición y calidad de las proteínas del grano, además de su cantidad, como determinante de la fuerza panadera. Esto último fue más evidente para los tratamientos fertilizados con N en E2, donde resulta interesante que la variabilidad de W aumentó con valores altos de %Pro, es decir que el incremento en el contenido de proteína no estabilizó la calidad del grano (Fig. 20). Para indagar sobre esto último, se propuso el W/%Pro como un posible indicador de la calidad panadera de la proteína almacenada en el grano. Así, la calidad proteica resultó superior en E1 y, dentro de cada experimento, en los CC. A su vez, en E1 no se registraron grandes diferencias entre tratamientos de fertilización, mientras que en E2, el agregado de S con alto nivel de N mejoró notablemente la calidad proteica solo para los CL (Fig. 21). De esta manera, la deficiencia de S inducida por la fertilización con N y las elevadas temperaturas durante el llenado de granos en los CC pudieron favorecer la ocurrencia de desbalances en la composición proteica e impactar negativamente en la calidad, pese al elevado contenido proteico. El cociente W/%Pro resulta de utilidad para ajustar el manejo del cultivo o evaluar el desempeño de distintos genotipos, de manera de maximizar la fuerza panadera con el menor nivel de proteína posible, optimizando así el compromiso entre rendimiento y calidad del grano.

El W correlacionó positivamente tanto con el L como con el P, demostrando la importancia de ambos parámetros como fuentes de variación en ambientes contrastantes (Tabla 21). Previamente, se ha reportado al P como poco dependiente de la fertilización nitrogenada, siendo afectado por el año y el genotipo (Lerner *et al.*, 2013). Sin embargo, al incorporar la fertilización azufrada en ambientes deficientes, la variación en W resultó de cambios en P y L. Por otra parte, el SDSS explicó la variación en W con gran dispersión de datos en el rango superior, lo que indica la falta de precisión de dicho método para detectar casos de buena calidad en ambientes con deficiencia de S (Fig. 22). La predicción del W mejoró notablemente ( $R^2=0,60$ ) con un modelo de regresión múltiple que incluyó como variables predictoras al SDSS y el %Pro, y descartó al %S y la N/S (Tabla 22). Estas variables son factibles de medir en muestras reducidas, permitiendo discriminar genotipos por calidad en etapas tempranas de selección. Cabe aclarar que para la obtención del W mediante el alveograma se requiere de 250 g de harina, que según el rendimiento del molino, provienen de una muestra de entre 500 y 1500 g de granos. Lo anteriormente discutido sobre la influencia del ambiente sobre el SDSS y su mayor estabilidad al ser expresado a proteína constante tiene coherencia con las variables retenidas por el modelo de explicación del W. A su vez, el SDSS se asoció positivamente con el %Pro y el %GH, pero con baja correlación. Con respecto a la relación del SDSS con el W, la misma fue explicada por una correlación positiva con el L, siendo independiente del P (Tabla 21).

Al analizar el efecto genotípico en ambos experimentos para los atributos relacionados con el rendimiento y la calidad del grano en conjunto, se observó que el rendimiento y sus componentes fueron independientes del W y el %GH, mientras que el SDSS se relacionó positivamente con ambos grupos de variables. En cambio, el %Pro mostró una relación negativa con el rendimiento y positiva con el W, y el P/L una

relación negativa con el SDSS (Fig. 23). De esta manera, los incrementos de rendimiento asociados al genotipo y el ambiente (año, sitio) estuvieron asociados negativamente con la concentración de proteína en los granos, pero resultaron independientes o asociados positivamente con parámetros que definen la fuerza panadera. Varios autores reportaron similares asociaciones entre rendimiento y contenido de proteína para trigo pan y cebada en distintos ambientes (Ferraris, 2013; Prystupa *et al.*, 2008). Se registró un primer agrupamiento por experimentos, presentando el E2 bajo rendimiento y mala calidad panadera, mientras que el E1 presentó mayor rendimiento y calidad variable entre genotipos. Sin embargo, los genotipos 304 (CL) y PRO (CC) presentaron buena calidad panadera en E2, exhibiendo un buen desempeño en ambientes limitantes. Nuevamente, los CL tendieron a presentar menor calidad panadera que los CC en E1. Al comparar los genotipos presentes en ambos experimentos (304, 601, 801, BI3, GAV, PRO), todos presentaron cambios de grupo de rendimiento y calidad, a excepción de PRO que mantuvo una buena calidad panadera asociada a bajo rendimiento en E1 y E2. Por otra parte, el GC no discriminó claramente por rendimiento y calidad, encontrando cultivares de todos los GC en los grupos de mala calidad panadera y solo de los GC1 y GC2 en los de buena calidad (Fig. 23). Esto demuestra la heterogeneidad genotípica y las diferencias en las respuestas al ambiente dentro de los GC. En relación a esto, Fraschina *et al.* (2007) encontraron que la interacción GC x ambiente fue altamente significativa sólo para W pero sin cambio de orden, para un grupo de genotipos de trigo pan argentinos.

### 3.5 CONCLUSIONES

En este capítulo se analizó detalladamente la calidad industrial de los granos obtenidos.

Hipótesis: 2) *La fertilización nitrogenada incrementa la relación N/S, el contenido de proteína y de gluten, mejorando la fuerza panadera; mientras que la fertilización azufrada no modifica el contenido de proteína pero reduce la relación N/S y equilibra la relación tenacidad/extensibilidad.*

Hipótesis: 3) *Los genotipos con mayor potencial de calidad presentan mayores respuestas a la fertilización nitrógeno-azufrada en los atributos de calidad industrial, y resultan más estables bajo condiciones de baja fertilidad.*

Los resultados permiten corroborar parcialmente las hipótesis 2 y 3, concluyendo que: i) la relación N/S es afectada principalmente por la disponibilidad de N en todos los ambientes, adquiriendo relevancia secundaria el genotipo y sus interacciones (en el ambiente de mayor fertilidad del suelo) y el S y la interacción N\*S (en el ambiente limitante), ii) el contenido de proteínas y de gluten en los granos fueron similares entre experimentos, siendo el nivel de N el factor de mayor importancia, mientras que el agregado de S presentó respuestas positivas de escasa magnitud, que dependieron del ambiente, el ciclo y la disponibilidad de N; iii) el genotipo resulta el principal factor determinante del volumen de sedimentación (SDSS), seguido del nivel de N y su interacción con el genotipo (en el ambiente de mayor fertilidad) y de la disponibilidad de S y su interacción con el N (en el ambiente limitante); iv) la deficiencia de S inducida por la fertilización con N reduce significativamente el SDSS pese al incremento del %Pro, comprometiendo su efectividad como indicador de la calidad intrínseca en el ambiente de baja fertilidad; v) genotipo y nivel de N son las principales fuentes de variación para la fuerza panadera W en todos los ambientes, aunque los efectos secundarios son más complejos en el ambiente de fertilidad limitada

debido al mayor número de interacciones significativas (el S resulta significativo en el ambiente limitante y genera cambios en distinto sentido al considerar las interacciones con el N, el ciclo y el genotipo); vi) en la definición de la calidad panadera, la interacción del genotipo con el nivel de N fue de tipo cuantitativa, mientras que con el nivel de S fue cualitativa; vii) la deficiencia de S inducida por la fertilización nitrogenada en el ambiente de baja fertilidad generó un incremento significativo de la relación P/L, que fue corregido por la fertilización azufrada; viii) la relación N/S se asocia positivamente con atributos de calidad panadera en el ambiente de mayor fertilidad; mientras que la N/S se asocia positivamente con la tenacidad y negativamente con la extensibilidad, siendo independiente de la fuerza panadera en el ambiente limitante; ix) el SDSS presenta menor sensibilidad ante cambios en el ambiente que la fuerza panadera (W), aunque fue afectado por la deficiencia de S; x) los cambios en la fuerza panadera son explicados por variaciones conjuntas del contenido proteico y el volumen de sedimentación; y xi) existe variabilidad genotípica en la respuesta al ambiente dentro de los grupos de calidad, detectando genotipos con calidad panadera estable en cada grupo.



## Capítulo 4

### El patrón proteico y su relación con cambios en la composición cuantitativa del gluten originados por la fertilización nitrógeno-azufrada

#### 4.1 INTRODUCCIÓN

El genotipo juega un rol muy importante en la determinación de la calidad potencial del grano, ya que define el patrón de proteínas que se almacena en el endosperma, determinando la composición cualitativa del gluten. Mediante el test de sedimentación en SDS (SDSS), Payne *et al.* (1980) evidenciaron una fuerte asociación entre ciertos alelos que codifican para subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) y el valor tecnológico de trigo pan. Posteriormente y en base al mismo test, Payne *et al.* (1987) crearon un sistema de puntuación, denominado *Glu-1 quality score*, que asigna un valor a las distintas subunidades de HMW codificadas por los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, resultando en un valor de calidad (3 a 10) para una determinada variedad (Tabla 24).

Branlard y Dardevet (1985a, b) demostraron la influencia de la diversidad de subunidades de HMW y gliadinas sobre las propiedades reológicas de la masa, tales como la resistencia, tenacidad y extensibilidad, utilizando una amplia colección de genotipos de trigo provenientes de distintos países. Otros estudios han mostrado que las variaciones alélicas en genes que codifican subunidades de HMW, gluteninas de bajo peso molecular (LMW) y gliadinas están conjuntamente asociadas con diferencias en las características tecnológicas de la harina de trigo (Payne, 1987; Autran *et al.*, 1987; Gupta *et al.*, 1989; Khelifi *et al.*, 1992; Nieto-Taladriz *et al.*, 1994; Branlard *et al.*, 2001).

Tabla 24: Valores asignados por Payne *et al.* (1987) a las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW), sobre los cuales se obtiene el *Glu-1 quality score* que califica a las variedades según su patrón genotípico.

Score	Cromosoma		
	1A	1B	1D
4	-	-	5+10
3	1	17+18	-
3	2*	7+8	-
2	-	7+9	2+12
2	-	-	3+12
1	Nulo	-	4+12
1	-	6+8	-

La composición cuantitativa del gluten, definida por las proporciones de las distintas fracciones proteicas, es afectada por la sustitución del brazo corto del cromosoma 1B del trigo por el brazo corto del cromosoma 1R del centeno (translocación 1B/1R). Esta introgresión es utilizada en los programas de mejoramiento debido a que el brazo 1R del centeno le confiere al trigo resistencia a patógenos y mejora rasgos de interés agronómico (Amiour *et al.*, 2002), aunque impacta negativamente en la calidad (Martín y Carrillo, 1999). Otro factor que puede afectar la

relación entre los diferentes grupos proteicos es la presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7 (HMW), que solo se asocia a la subunidad 8 (generalmente representadas como 7+8\*) (Marchylo *et al.*, 1992).

Las condiciones del ambiente durante el ciclo del cultivo, particularmente en postfloración, modulan la expresión del genotipo determinando la composición cuantitativa del gluten y la calidad final del grano. En general, aumentos en la disponibilidad de N generan incrementos en la proporción de gliadinas (monoméricas) y, en consecuencia, en la extensibilidad de las masas (Saint Pierre *et al.*, 2008b; Godfrey *et al.*, 2010). A su vez, el S tiene un rol fundamental en la formación de puentes disulfuro, determinantes de la estructura cuaternaria de las proteínas que forman el gluten y las propiedades viscoelásticas de las masas (Muller *et al.*, 1998).

La proporción de subunidades de HMW generalmente se incrementa y la de LMW decrece cuando el S es limitante relativo al N, aunque los efectos en las proporciones de las subunidades de gluteninas tienden a ser limitados en comparación con los efectos sobre la fracción de gliadinas (Wieser *et al.*, 2004; Zörb *et al.*, 2009; Shewry, 2011). Flaete *et al.* (2005) reportaron que la aplicación de N sin aplicar S puede alterar el balance entre estos dos nutrientes y que entonces el nivel de S en los granos resulte inadecuado para la constitución normal del gluten. La deficiencia de S durante el llenado de los granos puede alterar las relaciones entre los diferentes grupos de proteínas de reserva del grano. De esta manera, los componentes S-ricos del grano se incrementan relativamente más en comparación con los componentes S-pobres, cuando la absorción de S desde el suelo es alta, lo cual puede ocurrir por alta disponibilidad de S o baja disponibilidad relativa de N (Shewry *et al.*, 2009). Por su parte, la temperatura durante la fase de llenado de granos afecta la cantidad relativa de las diferentes subunidades proteicas y puede alterar la respuesta a la fertilización (DuPont y Altenbach, 2003; Don *et al.*, 2005; DuPont *et al.*, 2006a, b).

En contraste con esfuerzos realizados para comprender las bases genéticas de la calidad del gluten de trigo pan, la interacción con los factores del ambiente ha recibido menos atención y resulta más complejo de estudiar (Luo *et al.*, 2000). Así, el genotipo puede modificar las respuestas a la fertilización nitrogenada y azufrada en trigo pan y candeal (Tea *et al.*, 2005; Pompa *et al.*, 2009; Zörb *et al.*, 2009). Por otro lado, el estrés térmico suele afectar negativamente la calidad panadera, disminuyendo la fuerza de la masa. Sin embargo, se han reportado diferencias entre genotipos en cuanto a su sensibilidad o tolerancia a dicho estrés, lo cual es de gran importancia para los programas de mejoramiento (Wrigley *et al.*, 1994; Gaido y Dubois, 2008).

Por todo lo expuesto, resulta de especial relevancia evaluar el impacto de la disponibilidad de nitrógeno y azufre sobre la calidad del gluten de genotipos de trigo pan con diferente patrón proteico, con el objetivo de identificar alelos favorables y su interacción con el ambiente. Esto permitirá asistir al mejoramiento genético en búsqueda de materiales más eficientes en lo que hace a calidad industrial, complementando la ganancia genética en rendimiento, todo en el contexto de una creciente demanda de alimentos a nivel mundial. *Objetivo específico: d) Cuantificar la variación de subunidades proteicas ricas y pobres en S ante cambios en la disponibilidad de N y S en cultivares con diferente patrón alélico de gliadinas y gluteninas, y analizar su relación con parámetros de calidad.*

## 4.2 METODOLOGÍA

Se utilizaron muestras de granos obtenidas en cada subparcela de los experimentos previamente descritos en el Capítulo 2.

### 4.2.1 Identificación del patrón proteico y cuantificación de subunidades

Sobre muestras de granos molidos se realizó electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE, unidimensionales, T=13,5%), con extracción secuencial de gliadinas y gluteninas según la metodología de Gupta y Mc Ritchie (1991), sembrando un volumen de 20 µl de extracto por calle. Se calificó la calidad de los distintos cultivares según el índice *Glu-1 quality score* (Payne, 1987), que tiene en cuenta el patrón o perfil de subunidades de HMW y la corrección por translocación 1BL/1RS. A su vez, se identificaron las subunidades de LMW, el tipo de gliadinas y la presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7. La identificación de subunidades se realizó mediante las nomenclaturas utilizadas por Lerner *et al.* (2009) y la presencia de Bx7 según Marchylo *et al.* (1992). De esta manera se determinó el patrón o perfil proteico que define la composición cualitativa del gluten de cada genotipo.

Las distintas fracciones de proteínas, que definen la composición cuantitativa del gluten, se cuantificaron por densitometría utilizando la intensidad de píxeles como un indicador de abundancia. A tal efecto, los proteinogramas fueron escaneados y analizados con software específico (TotalLab v1.10 demo). Se aplicó sustracción de fondo y la cantidad de proteína de cada subunidad o fracción se expresó en términos relativos a un total o como relación entre fracciones, neutralizando así la variabilidad asociada a diferencias de tinción entre geles. De esta manera, se determinaron: relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU), relación entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW), relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-1* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular (Glu-A1x/HMW, Glu-B1x/HMW, Glu-B1y/HMW, Glu-D1x/HMW, Glu-D1y/HMW), relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular (Glu-A3/LMW, Glu-B3/LMW, Glu-D3/LMW), relación entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli), relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI).

### 4.2.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó el diseño experimental previamente descrito en el Capítulo 2. Los efectos de ciclo (C), genotipo (G), N, S y las interacciones dobles y triples sobre variables de composición cuantitativa del gluten se analizaron por ANOVA y Prueba de Fischer ( $\alpha=0,05$ ), utilizando suma de cuadrados tipo I cuando los datos fueron desbalanceados y tipo III cuando fueron balanceados. Para cada atributo estudiado se calculó el %SC de cada FV, al igual que en el Capítulo 2.

Los efectos conjuntos de genotipo y ambiente asociado a cada experimento se analizaron mediante Análisis de Componentes Principales (ACP) (criterio para conformación de CP: autovector > 1/2 del máximo), con el objetivo de estudiar las asociaciones entre variables de calidad y composición cuantitativa del grano y detectar patrones de respuesta ligados al genotipo. Se realizó Análisis de Correlación (Pearson) entre parámetros de calidad y de composición cuantitativa del gluten, para evaluar el

grado de asociación entre variables. Se utilizó Análisis de Conglomerados (dendrogramas) utilizando el método promedio (Average linkage) y la distancia euclídea sobre los datos estandarizados de composición cuantitativa total del gluten, con el objetivo de estudiar los efectos del patrón de cada fracción proteica ligado al genotipo, de los tratamientos de fertilización y sus interacciones. Se utilizó el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2014).

### 4.3 RESULTADOS

#### 4.3.1 Identificación del patrón proteico

Para los loci que codifican subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW), se encontraron 3, 6 y 2 variantes alélicas en *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, respectivamente. Así, se observaron 11 combinaciones alélicas, siendo las de mayor frecuencia las que reúnen a las subunidades 2\* 7+8\* 5+10 (25 %), 2\* 17+18 5+10 (17 %), 2\* 7+8 5+10 (13 %) y 2\* 7+9 5+10 (13 %) (Tabla 25). Por otro lado, se detectó sobreexpresión de la subunidad Bx7 (7oe) en el 29 % de los cultivares.

Para los loci que codifican subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (LMW) se observaron 6, 8 y 3 variantes alélicas en *Glu-A3*, *Glu-B3* y *Glu-D3*, respectivamente. De esta manera, se encontraron 16 combinaciones alélicas, que fueron identificadas siguiendo la nomenclatura utilizada por Lerner *et al.* (2009), siendo las de mayor frecuencia *f b c* (25 %), *c h b* (13 %) y *c j b* (8 %). Con respecto a las gliadinas, el 75 % de los genotipos presentó el tipo CSS y el 25 % restante el tipo CNN. Sólo se encontró introgresión con centeno (Int) en CAS y GAV (8 %) (Tabla 25).

El 67 % de los genotipos presentaron el valor máximo (10) del *Glu-1 quality score* (Payne, 1987) (SC); de los cuales el 44 % pertenecen al grupo de calidad (GC) 1, el 44 % al GC 2 y el 12 % al GC 3. El 33 % restante se distribuyó en el SC 9 (13 %), el SC 8 (4 %), el SC 7 (8 %), el SC 6 (4 %) y sin dato (sd) (4 %), este último correspondiente a FAS. Para este cultivar no fue posible calcular el SC debido a que se encontró una subunidad codificada por *Glu-A1* inusual, la cual presentó movilidad electroforética intermedia entre 1 y 2\*. Con respecto al total de genotipos evaluados en ambos experimentos, el 37 % pertenece al GC 1, el 42 % al GC 2 y el 21 % restante al GC 3 (Tabla 25).

Tabla 25: Subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*), variantes alélicas en gluteninas de bajo peso molecular (LMW) (*Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*), tipo de gliadinas (*Gli*), presencia de introgresión con centeno (Int), presencia de sobreexpresión de la subunidad Bx7 (7oe), valor de *Glu-1* quality score (SC) (Payne, 1987) y grupo de calidad (GC) para los cultivares analizados en cada experimento (E1, E2). Se indica la presencia de los genotipos (X) en cada experimento y el Año de liberación.

Genotipo	E1	E2	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>Glu-D3</i>	<i>Gli</i>	INT	SC	GC	Año
304	X	X	2*	7+8*	5+10	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CNN		10	1	2004
601	X	X	2*	7+8	5+10	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CNN		10	1	2003
801	X	X	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>g</i> *	<i>b</i>	CSS		9	2	2004
BI1	X		1	7+8	5+10	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CSS		10	2	2004
BI2	X		2*	7+8*	5+10	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CNN		10	1	2004
BI3	X	X	1	7+8*	5+10	<i>b</i>	<i>g</i> *	<i>c</i>	CSS		10	2	2004
100		X	2*	6+8	5+10	<i>d</i>	<i>g</i>	<i>c</i>	CSS		8	2	2010
127		X	2*	7+9	2+12	<i>c</i>	<i>e</i>	<i>b</i>	CSS		7	3	2011
AGU	X		2*	17+18	5+10	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CNN		10	3	2004
CHC	X		2*	17+18	5+10	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>c</i>	CNN		10	2	2005
FAS		X	sd	13+16	5+10	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	CSS		sd	3	2009
MEJ	X		2*	7+8*	5+10	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CNN		10	1	2004
LIQ	X		2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>a</i>	CSS		9	1	1988
CAP	X		2*	7+8	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	CSS		10	2	2004
CAS	X		1	17+18	5+10	<i>c</i>	<i>j</i>	<i>b</i>	CSS	X	7	2	2005
CHJ		X	2*	17+18	5+10	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>b</i>	CSS		10	3	2002
FLE	X		2*	7+8*	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	CSS		10	2	2003
GAV	X	X	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>j</i>	<i>b</i>	CSS	X	6	3	2004
JAB	X		2*	7+8*	5+10	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>c</i>	CSS		10	1	2002
PRO	X	X	1	7+9	5+10	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>b</i>	CSS		9	1	2003
TAU	X		1	7+8*	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	CSS		10	2	2005
CHU	X		2*	7+8	5+10	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	CSS		10	2	2004
CON	X		2*	7+8*	5+10	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	CSS		10	1	2006
TOR	X		2*	17+18	5+10	<i>f</i>	<i>g</i>	<i>a</i>	CSS		10	1	2006

#### 4.3.2 Cuantificación de subunidades de gliadinas y gluteninas

En E1, la relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó en los ciclos largos (CL) entre 0,39 y 2,17, con una media de 1,30; y en los ciclos cortos (CC) entre 0,32 y 2,07, con una media de 0,96. A su vez, la relación entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW) fluctuó en los CL entre 0,45 y 2,41, con una media de 1,34; y en los CC entre 0,76 y 3,13, con una media de 1,42. Por otro lado, en E2, GLI/GLU varió en los CL entre 0,45 y 2,82, con una media de 1,43; y en los CC entre 0,88 y 2,74, con una media de 1,57. Por su parte, HMW/LMW varió en los CL entre 0,15 y 2,05, con una media de 0,77; y en los CC entre 0,35 y 3,74, con una media de 1,35.

Tabla 26: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para las relaciones entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) y entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	GLI/GLU					HMW/LMW			
	E1		E2		%SC	E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig		%SC	Sig	%SC	Sig
C	19,1	***	2,7	**	0,8	**	18,4	***	
G	64,3	***	24,7	**	83,5	***	60,4	***	
N	2,8	***	12,7	***	1,5	***	5,6	***	
S	0,0	ns	19,3	***	0,0	ns	3,1	***	
C*N	0,1	ns	2,3	**	1,2	***	0,0	ns	
C*S	0,1	ns	2,1	*	0,7	**	0,8	**	
G*N	4,0	**	3,0	ns	2,1	*	2,0	**	
G*S	5,2	**	4,7	ns	5,1	***	2,3	**	
N*S	0,1	ns	19,1	***	0,1	ns	1,3	**	
C*N*S	0,3	ns	0,0	ns	0,4	*	0,5	*	
G*N*S	1,8	ns	1,1	ns	1,8	*	1,1	ns	

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre. SC tipo I.

En E1, los principales determinantes de la relación GLI/GLU fueron el G y el C, mientras que en E2, fueron el G, el S, el N y la interacción N\*S. Sin embargo, las interacciones significativas indicaron que el efecto de la fertilización nitrogenada y azufrada dependió del G en E1 y del C en E2 (Tabla 26). Así, en E1, sólo el 30 % de los cultivares incrementaron significativamente la GLI/GLU al fertilizar con N y sólo el 20 % respondieron en distinto sentido al fertilizar con S, mientras que los restantes fueron estables entre niveles de nutrientes (Tabla 27). Por su parte, en E2, la fertilización azufrada redujo significativamente la GLI/GLU con alto nivel de N y con mayor magnitud en los CL (Fig. 24).

Tabla 27: Medias de la relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) para los tratamientos sin N (N0) y con N (N1) y para los tratamientos sin S (S0) y con S (S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando grupo de calidad (GC) y *Glu-1 quality score* (SC), en ambos experimentos (E1, E2). Se indican las diferencias mínimas significativas (DMS) para las interacciones G\*N y G\*S. Valores en negrita indican diferencias significativas entre niveles del nutriente para cada genotipo. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Relación GLI/GLU											
Experimento 1											
Ciclo Largo Genotipo	N0	N1	Ciclo Corto Genotipo	N0	N1	Ciclo Largo Genotipo	S0	S1	Ciclo Corto Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1-SC10</u>	1,55	1,73	<u>601-GC1-SC10</u>	<b>0,72</b>	<b>0,94</b>	<u>304-GC1-SC10</u>	1,64	1,64	<u>601-GC1-SC10</u>	0,87	0,79
BI2-GC1-SC10	1,02	1,1	<u>801-GC2-SC9</u>	<b>0,85</b>	<b>1,11</b>	BI2-GC1-SC10	1,01	1,1	<u>801-GC2-SC9</u>	0,89	1,03
<u>BI3-GC2-SC10</u>	<b>0,71</b>	<b>0,95</b>	BI1-GC2-SC10	0,81	0,87	<u>BI3-GC2-SC10</u>	<b>1,04</b>	<b>0,62</b>	BI1-GC2-SC10	<b>0,69</b>	<b>0,98</b>
AGU-GC3-SC10	1,8	1,79	MEJ-GC1-SC10	<b>1,28</b>	<b>1,68</b>	AGU-GC3-SC10	1,75	1,84	MEJ-GC1-SC10	1,38	1,52
CHC-GC2-SC10	<b>1,2</b>	<b>1,64</b>	CAS-GC2-SC7	0,47	0,6	CHC-GC2-SC10	<b>1,23</b>	<b>1,55</b>	CAS-GC2-SC7	0,56	0,51
LIQ-GC1-SC9	1,23	1,27	FLE-GC2-SC10	0,64	0,77	LIQ-GC1-SC9	<b>1,12</b>	<b>1,38</b>	FLE-GC2-SC10	0,74	0,68
CAP-GC2-SC10	1,68	1,72	<u>PRO-GC1-SC9</u>	0,73	0,8	CAP-GC2-SC10	1,66	1,74	<u>PRO-GC1-SC9</u>	0,77	0,76
<u>GAV-GC3-SC6</u>	1	1	TAU-GC2-SC10	1,59	1,45	<u>GAV-GC3-SC6</u>	1,08	0,92	TAU-GC2-SC10	1,43	1,61
JAB-GC1-SC10	1,11	1,2	CHU-GC2-SC10	1,4	1,29	JAB-GC1-SC10	1,22	1,08	CHU-GC2-SC10	1,44	1,25
TOR-GC1-SC10	<b>1,06</b>	<b>1,44</b>	CON-GC1-SC10	0,68	0,84	TOR-GC1-SC10	1,32	1,18	CON-GC1-SC10	0,77	0,74
DMS G*N = 0,21						DMS G*S = 0,21					
Experimento 2											
Ciclo Largo Genotipo	N0	N1	Ciclo Corto Genotipo	N0	N1	Ciclo Largo Genotipo	S0	S1	Ciclo Corto Genotipo	S0	S1
<u>304-GC1-SC10</u>	1,19	1,70	<u>801-GC2-SC9</u>	1,21	1,29	<u>304-GC1-SC10</u>	1,74	1,15	<u>801-GC2-SC9</u>	1,37	1,13
<u>601-GC1-SC10</u>	1,42	1,97	FAS-GC3-sd	1,66	1,88	<u>601-GC1-SC10</u>	2,11	1,28	FAS-GC3-sd	2,00	1,54
<u>BI3-GC2-SC10</u>	1,39	1,88	CHJ-GC3-SC10	1,32	1,66	<u>BI3-GC2-SC10</u>	1,68	1,55	CHJ-GC3-SC10	1,57	1,42
127-GC3-SC7	1,17	1,71	<u>GAV-GC3-SC6</u>	1,52	1,76	127-GC3-SC7	1,47	1,37	<u>GAV-GC3-SC6</u>	1,78	1,50
100-GC2-SC8	0,93	1,04	<u>PRO-GC1-SC9</u>	1,69	1,75	100-GC2-SC8	1,35	0,62	<u>PRO-GC1-SC9</u>	1,82	1,61
DMS G*N = 0,31 (ns)						DMS G*S = 0,31 (ns)					

Nota: ns: efecto no significativo en ANOVA.

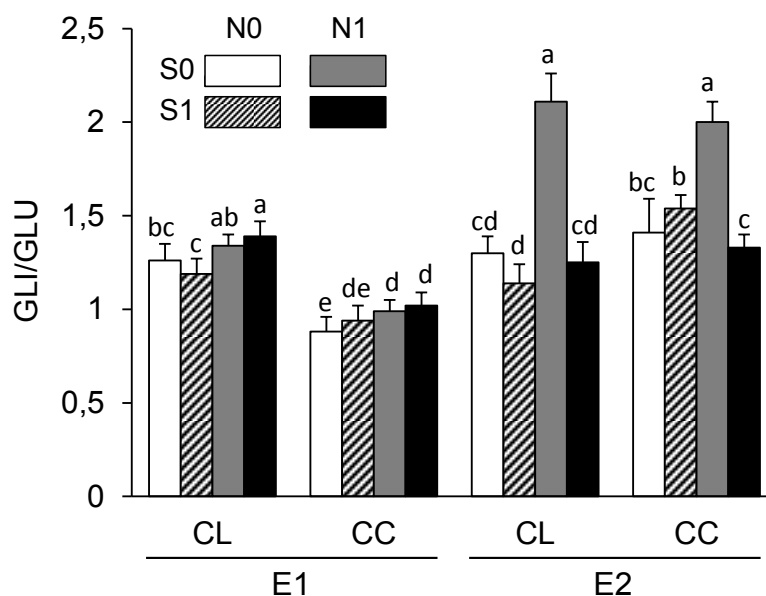


Figura 24: Promedio de la relación entre los contenidos de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en ambos experimentos (E1, E2). Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento.

El G resultó la principal FV para la relación HMW/LMW en ambos experimentos, aunque se detectaron interacciones triples significativas, indicando que los efectos de la fertilización con N y S dependieron del G y el C en E1 y del C en E2 (Tabla 26). De esta manera, en E1, la mayoría de los genotipos presentaron estabilidad entre niveles de N con bajo nivel S y sólo el 20 % respondió positivamente a la fertilización nitrogenada, mientras que con alto nivel de S, el 60 % de los genotipos mostraron estabilidad entre niveles de N y los restantes respondieron en distinto sentido a la fertilización. Por otro lado, en E2, la fertilización azufrada redujo la relación HMW/LMW solo con alto nivel de N y con mayor magnitud en los CC (CL= -19 %, CC= -33 %) (Tabla 28).



Tabla 28: Medias de la relación entre los contenidos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo y corto, indicando grupo de calidad (GC) y *Glu-1 quality score* (SC), en ambos experimentos (E1, E2). Letras distintas indican diferencias significativas entre promedios dentro de cada experimento. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

Relación HMW/LMW									
Experimento 1									
Ciclo Largo					Ciclo Corto				
Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1	Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1
<u>304-GC1-SC10</u>	1,04	0,63	1,01	1,09	<u>601-GC1-SC10</u>	1,03	1,16	1,24	1,29
BI2-GC1-SC10	0,98	0,94	1,23	1,2	<u>801-GC2-SC9</u>	0,93	1,13	1,05	1,07
<u>BI3-GC2-SC10</u>	0,88	0,64	1,07	0,87	BI1-GC2-SC10	1,15	1,13	1,68	1,03
AGU-GC3-SC10	1,32	1,4	1,35	1,73	MEJ-GC1-SC10	1,27	1,2	1,25	1,2
CHC-GC2-SC10	0,71	0,65	1,09	0,96	CAS-GC2-SC7	2,27	2,77	2,23	2,33
LIQ-GC1-SC9	2,04	1,6	2,06	1,62	FLE-GC2-SC10	1,77	2,21	1,76	1,96
CAP-GC2-SC10	1,82	1,75	1,75	1,77	<u>PRO-GC1-SC9</u>	1,07	1,09	1,27	1,19
<u>GAV-GC3-SC6</u>	1,82	1,96	2,09	2,27	TAU-GC2-SC10	1,53	1,27	1,26	1,52
JAB-GC1-SC10	0,92	0,81	1,42	1,12	CHU-GC2-SC10	1,32	2,1	1,49	1,7
TOR-GC1-SC10	1,09	1,21	1,4	1,5	CON-GC1-SC10	0,86	0,94	0,99	0,97
DMS G*N*S = 0,28									
Promedio	1,27 b	1,18 c	1,48 a	1,42 a		1,32 b	1,50 a	1,42 a	1,43 a

Experimento 2									
Ciclo Largo					Ciclo Corto				
Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1	Genotipo	N0S0	N0S1	N1S0	N1S1
<u>304-GC1-SC10</u>	0,99	0,94	1,30	1,26	<u>801-GC2-SC9</u>	0,43	0,38	0,56	0,43
<u>601-GC1-SC10</u>	0,97	0,76	1,62	1,19	FAS-GC3-sd	0,94	0,72	2,08	1,03
<u>BI3-GC2-SC10</u>	0,43	0,45	0,55	0,48	CHJ-GC3-SC10	1,04	1,23	1,70	1,36
127-GC3-SC7	0,68	0,47	1,33	0,69	<u>GAV-GC3-SC6</u>	2,39	2,50	3,07	2,16
100-GC2-SC8	0,19	0,29	0,44	0,53	<u>PRO-GC1-SC9</u>	1,34	0,79	1,76	1,12
DMS G*N*S = 0,34									
Promedio	0,65 e	0,58 e	1,03 c	0,83 d		1,23 b	1,12 bc	1,83 a	1,22 b

En E1, el G resultó la principal FV para las relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-1* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular (*Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW). A su vez, la fertilización con S no presentó efectos significativos en ningún caso, a excepción de algunas interacciones de escasa magnitud. La fertilización con N afectó significativamente las relaciones, a excepción de *Glu-A1x*/HMW, disminuyendo en promedio un 4 % a *Glu-B1x*/HMW y *Glu-D1x*/HMW; e incrementando un 15 y un 5 % a *Glu-B1y*/HMW y *Glu-D1y*/HMW, respectivamente. Además, el C resultó significativo para *Glu-A1x*/HMW y *Glu-B1y*/HMW, exhibiendo una mayor relación promedio en los CC para el primer caso y en los CL para el segundo. Por otro lado, en E2, las principales FV fueron el G para *Glu-B1x*/HMW y *Glu-D1y*/HMW, el G y el C para *Glu-A1x*/HMW y *Glu-D1x*/HMW y el C y el N para *Glu-B1y*/HMW. La fertilización con N también afectó significativamente las demás

relaciones, disminuyendo en promedio un 12 y un 8 % a *Glu-B1x*/HMW y *Glu-D1x*/HMW, respectivamente; e incrementando un 3, un 17 y un 11 % a *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW y *Glu-D1y*/HMW, respectivamente. La fertilización con S incrementó *Glu-B1x*/HMW un 4 % y disminuyó *Glu-D1y*/HMW un 5 % en promedio. A su vez, el agregado de S redujo *Glu-D1x*/HMW solo con alto nivel de N, mientras que disminuyó *Glu-B1y*/HMW con bajo nivel de N y la incrementó con alto nivel de N. En cuanto al efecto del C, la relación promedio fue significativamente mayor en los CL para *Glu-A1x*/HMW y *Glu-D1x*/HMW, y en los CC para *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW y *Glu-D1y*/HMW (Tabla 29).

Tabla 29: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para las relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-1* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular (*Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	<i>GLU-A1x</i> /HMW				<i>GLU-B1x</i> /HMW				<i>GLU-B1y</i> /HMW				<i>GLU-D1x</i> /HMW				<i>GLU-D1y</i> /HMW			
	E1		E2		E1		E2		E1		E2		E1		E2		E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig
C	3,0	**	30,2	***	0,0	ns	7,1	***	4,8	***	28,9	***	0,4	ns	21,4	***	0,0	ns	8,6	***
G	52,1	***	33,2	**	83,9	***	67,3	***	76,2	***	9,2	ns	73,3	***	31,9	**	57,1	***	62,1	***
N	0,3	ns	1,2	*	3,2	***	8,7	***	4,8	***	19,9	***	6,7	***	9,3	***	4,7	**	5,3	***
S	1,1	ns	0,0	ns	0,1	ns	2,8	**	0,1	ns	0,3	ns	0,0	ns	0,8	ns	0,2	ns	1,2	*
C*N	0,3	ns	1,6	**	0,3	ns	1,4	**	0,1	ns	0,2	ns	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns
C*S	1,4	ns	3,7	**	0,0	ns	0,0	ns	0,1	ns	0,2	ns	0,3	ns	0,3	ns	0,1	ns	0,4	ns
G*N	10,4	ns	6,3	**	3,2	*	3,4	**	4,8	ns	8,7	ns	6,7	ns	12,8	**	14,3	**	3,7	*
G*S	9,7	ns	7,9	**	3,2	**	1,8	ns	4,8	ns	7,7	ns	6,7	ns	2,5	ns	6,6	ns	5,3	**
N*S	0,1	ns	0,0	ns	0,0	ns	0,1	ns	0,1	ns	7,1	**	0,0	ns	2,5	*	0,2	ns	0,1	ns
C*N*S	0,1	ns	0,4	ns	0,0	ns	0,1	ns	0,0	ns	0,5	ns	0,3	ns	0,9	ns	0,1	ns	0,5	ns
G*N*S	10,8	ns	4,1	*	3,2	ns	3,2	*	4,8	ns	6,9	ns	6,7	*	5,7	ns	14,3	*	2,0	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre. SC tipo I.

En E1, el G resultó la principal FV para las relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular (*Glu-A3/LMW*, *Glu-B3/LMW*, *Glu-D3/LMW*). La fertilización azufrada no presentó efectos significativos en ningún caso, a excepción de algunas interacciones de escasa magnitud; mientras que la fertilización nitrogenada solo modificó levemente las relaciones de *Glu-A3/LMW* y *Glu-B3/LMW*, incrementando en promedio un 5 % la primera y disminuyendo un 1 % la segunda. A su vez, el C resultó significativo, observándose una mayor relación promedio en los CC para *Glu-A3/LMW* y *Glu-B3/LMW* y en los CL para *Glu-D3/LMW*. Por otro lado, en E2, la principal FV resultó nuevamente el G para todas las relaciones. El efecto principal del N fue no significativo, encontrándose interacciones G\*N\*S con reducido %SC en todos los casos. A su vez, la fertilización con S disminuyó *Glu-B3/LMW* un 8 % e incrementó *Glu-D3/LMW* un 10 % en promedio, mientras que incrementó *Glu-A3/LMW* con bajo nivel de N y la redujo con alto nivel de N. El efecto del C solo fue significativo para *Glu-A3/LMW* y *Glu-B3/LMW*, siendo mayor la relación promedio en los CC (Tabla 30). La Fig. 25 ilustra el efecto de la fertilización combinada sobre la composición cuantitativa de HMW y LMW para el cultivar 127 en E2.

Tabla 30: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para las relaciones entre los contenidos de diferentes subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular (*Glu-A3/LMW*, *Glu-B3/LMW*, *Glu-D3/LMW*) y entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

FV	<i>GLU-A3/LMW</i>				<i>GLU-B3/LMW</i>				<i>GLU-D3/LMW</i>				$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli			
	E1		E2		E1		E2		E1		E2		E1		E2	
	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig	%SC	Sig
C	0,1	*	5,1	***	1,4	***	9,0	***	1,7	***	0,2	ns	1,0	**	4,9	***
G	96,8	***	87,5	***	93,6	***	70,6	***	93,2	***	84,4	***	70,2	***	23,7	***
N	0,5	**	0,0	ns	0,1	*	0,2	ns	0,0	ns	0,1	ns	16,1	***	46,1	***
S	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns	4,6	***	0,0	ns	3,5	***	0,0	ns	2,7	***
C*N	0,1	ns	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns	0,1	ns	0,0	ns	0,0	ns	1,7	**
C*S	0,0	ns	0,2	ns	0,1	*	0,4	*	0,0	ns	0,1	ns	0,3	ns	1,0	**
G*N	0,5	ns	1,8	**	2,1	***	4,7	***	1,7	**	5,7	***	4,4	**	6,5	***
G*S	0,5	ns	1,2	**	1,4	**	2,3	**	1,7	***	1,4	**	2,5	ns	4,6	**
N*S	0,1	*	0,4	**	0,0	ns	0,3	ns	0,0	ns	1,2	***	0,5	*	1,4	**
C*N*S	0,0	ns	0,1	Ns	0,0	ns	0,4	*	0,0	ns	0,0	ns	0,2	ns	0,2	ns
G*N*S	0,2	ns	1,5	**	0,7	ns	2,9	**	0,4	ns	1,3	**	1,7	ns	4,2	**

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. C: Ciclo, G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre. SC tipo I.

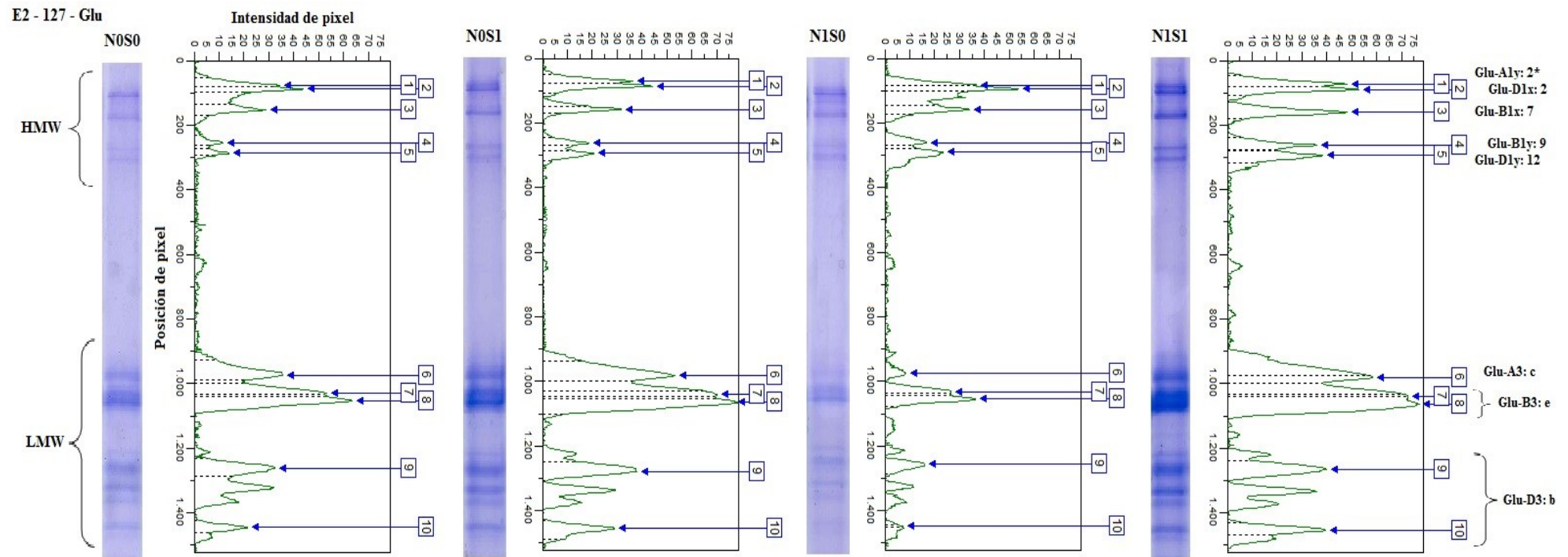


Figura 25: Fracciones de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T%= 13,5%) revelando el patrón de bandas en las gluteninas de alto peso molecular (HMW) y bajo peso molecular (LMW) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) del cultivar AGP 127 (127) en el experimento 2 (E2) y densitometría de cada fracción, en donde la intensidad de píxeles indica la abundancia de cada subunidad proteica.

En E1, la relación entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y la suma de  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para todos los tratamientos de fertilización fluctuó en los CL entre 0,23 y 1,16, con una media de 0,62; y en los CC entre 0,29 y 1,69, con una media de 0,66. En E2, dicha relación varió en los CL entre 0,40 y 1,54, con una media de 0,82; y en los CC entre 0,46 y 1,32, con una media de 0,73. Las principales FV para  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli fueron el G y el nivel de N en ambos experimentos, aunque se detectaron interacciones complejas de escasa magnitud (Tabla 30). De esta manera, los promedios de los genotipos difirieron significativamente al igual que la media de los ciclos en ambos experimentos (Tabla 31). A su vez, la fertilización nitrogenada incrementó el promedio de  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli en ambos experimentos y la fertilización azufrada sólo la redujo en E2 con alto nivel de N (Fig. 26). La Fig. 27 ilustra el efecto de la fertilización combinada sobre la composición cuantitativa de gliadinas para el cultivar 127 en E2.

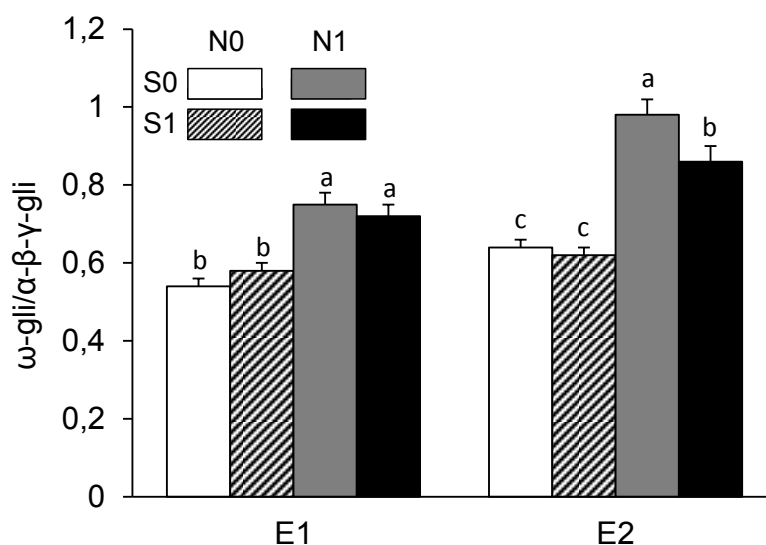


Figura 26: Promedio de la relación entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de todos los genotipos en ambos experimentos (E1, E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento.

Tabla 31: Medias de la relación entre el contenido de  $\omega$ -gliadinas y  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas ( $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para cada genotipo de ciclo largo y corto, indicando grupo de calidad (GC) y *Glu-1 quality score* (SC), en los experimentos 1 y 2. Letras distintas indican diferencias significativas entre promedios dentro de cada experimento. Genotipos subrayados se repiten en ambos experimentos.

$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli			
Experimento 1			
Ciclo Largo		Ciclo Corto	
Genotipo	Media	Genotipo	Media
<u>304-GC1-SC10</u>	0,79	<u>601-GC1-SC10</u>	0,82
BI2-GC1-SC10	0,89	<u>801-GC2-SC9</u>	0,57
<u>BI3-GC2-SC10</u>	0,58	BI1-GC2-SC10	0,68
AGU-GC3-SC10	0,75	MEJ-GC1-SC10	0,65
CHC-GC2-SC10	0,63	CAS-GC2-SC7	0,38
LIQ-GC1-SC9	0,59	FLE-GC2-SC10	0,76
CAP-GC2-SC10	0,57	<u>PRO-GC1-SC9</u>	1,13
<u>GAV-GC3-SC6</u>	0,32	TAU-GC2-SC10	0,62
JAB-GC1-SC10	0,66	CHU-GC2-SC10	0,55
TOR-GC1-SC10	0,53	CON-GC1-SC10	0,47
DMS G=0,08			
Promedio	0,62 b		0,66 a
Experimento 2			
Ciclo Largo		Ciclo Corto	
Genotipo	Media	Genotipo	Media
<u>304-GC1-SC10</u>	0,89	<u>801-GC2-SC9</u>	0,58
<u>601-GC1-SC10</u>	0,79	FAS-GC3-sd	0,77
<u>BI3-GC2-SC10</u>	0,90	CHJ-GC3-SC10	0,75
127-GC3-SC7	0,76	<u>GAV-GC3-SC6</u>	0,59
100-GC2-SC8	0,77	<u>PRO-GC1-SC9</u>	0,94
DMS G=0,08			
Promedio	0,82 a		0,73 b

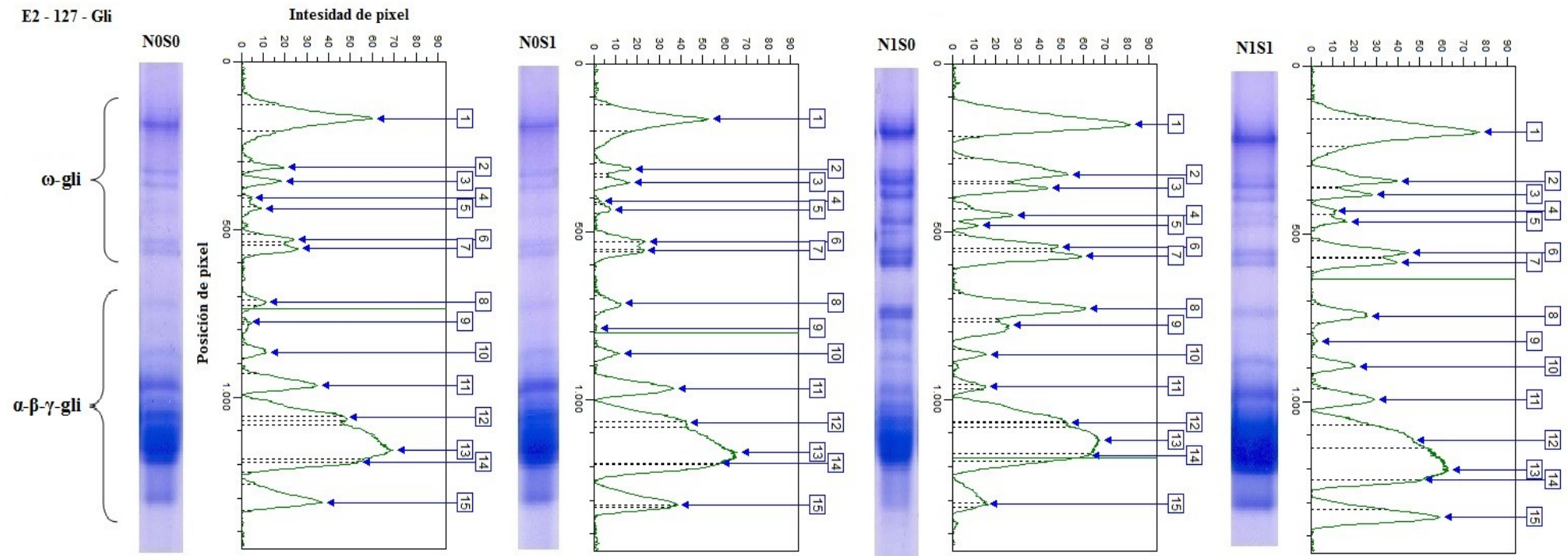


Figura 27: Fracciones de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE; T%= 13,5%) revelando el patrón de gliadinas S-pobres ( $\omega$ -gli) y S-ricas ( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) del cultivar AGP 127 (127) en el experimento 2 (E2) y densitometría de cada fracción, en donde la intensidad de píxeles indica la abundancia de cada subunidad proteica.



Tabla 32: Resumen de ANOVA incluyendo porcentaje de variabilidad explicada (%SC) y nivel de significancia (Sig) de las fuentes de variación (FV) consideradas para la relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI) para todos los tratamientos de fertilización de los genotipos K. Gavilán (GAV) y K. Castor (CAS) en el experimento 1 (E1) y GAV en el experimento 2 (E2).

FV	SEC/GLI				
	E1		E2		
	%SC	Sig	%SC	Sig	
G	75,0	**			
N	4,0	**	0,0	ns	
S	0,6	ns	75,0	**	
G*N	0,4	ns			
G*S	5,0	**			
N*S	0,4	ns	1,7	ns	
G*N*S	2,4	**			

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$ ; respectivamente. G: Genotipo, N: Nitrógeno, S: Azufre.

La relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI) se analizó en aquellos cultivares que presentaron introgresión con centeno, siendo CAS y GAV en E1 y GAV en E2. Se observaron diferencias significativas entre genotipos, y los efectos de la fertilización dependieron del G, el nivel del otro nutriente y el experimento (Tabla 32 y Fig. 28). En algunos casos, la fertilización azufrada redujo la relación SEC/GLI.

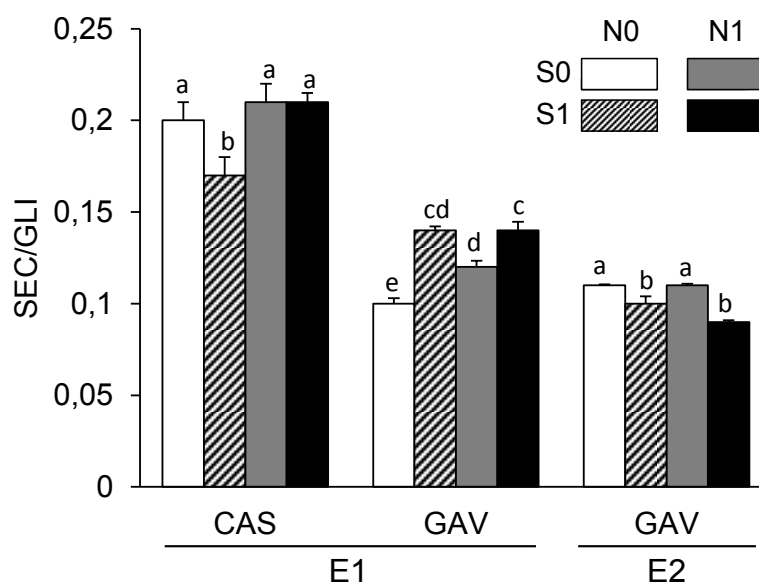


Figura 28: Promedio de la relación entre el contenido de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI) para los tratamientos sin N y sin S (N0S0), sin N y con S (N0S1), con N y sin S (N1S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos Castor (CAS) y Gavilán (GAV) en el experimento 1 (E1) y GAV en el experimento 2 (E2). Las barras indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre medias dentro de cada experimento.

#### 4.3.3 Cambios en la composición cuantitativa del gluten debidos a interacciones entre perfil proteico asociado al genotipo, fertilización y experimento

Con el fin de analizar los cambios en la composición cuantitativa del gluten se realizaron seis dendrogramas agrupando por tratamientos de fertilización con N y S para cada combinación de variantes alélicas de *Glu-1*, de *Glu-3* y tipo de gliadinas en cada uno de los experimentos. Se tomaron como variables a las relaciones entre las diferentes fracciones proteicas: GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli.

En E1, se conformaron 7 grupos (línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima) al conglomerar por los tratamientos de fertilización y las combinaciones alélicas de los loci *Glu-1* (HMW). De esta manera, N1S1 y N1S0 para 1:7+8:5+10 se separaron del resto formando dos grupos individuales. Los tratamientos N0S0 y N0S1 para la misma combinación formaron un grupo, todos los tratamientos para 1:7+9:5+10 otro grupo, todos los tratamientos para 2\*:7+9:5+10 otro grupo y todos los tratamientos para 2\*:7+8:5+10 otro grupo. A su vez, todos los tratamientos para 2\*:17+18:5+10, 1:7+8\*:5+10 y 2\*:7+8\*:5+10 conformaron un gran grupo (Fig. 29).

En E2, se conformaron 14 grupos al conglomerar por los tratamientos de fertilización y las combinaciones alélicas de los loci *Glu-1* (HMW). Así, se distinguieron 6 grupos individuales formados por N1S0 y N1S1 para 1:7+9:5+10, N0S1 y N1S1 para 2\*:6+8:5+10, N1S0 para 2\*:7+9:2+12 y N1S0 para 1:7+8\*:5+10; y 3 grupos de 2 elementos formados por N0S0 y N1S0 para 2\*:6+8:5+10, N1S1 para 2\*:7+8:5+10 y 2\*:7+8\*:5+10, y N0S0 y N0S1 para sd:13+16:5+10. A su vez, todos los tratamientos para 2\*:7+9:5+10 conformaron un grupo; todos los tratamientos para 2\*:17+18:5+10 otro grupo; N1S0 para sd:13+16:5+10, 2\*:7+8:5+10 y 2\*:7+8\*:5+10 otro grupo; y N0S0 y N0S1 para 1:7+9:5+10, N1S1 para sd:13+16:5+10 y N0S0 y N1S1 para 1:7+8\*:5+10 otro grupo. Por último, los tratamientos N0S0, N0S1 y N1S1 para 2\*:7+9:2+12, N0S0 y N0S1 para 2\*:7+8:5+10 y 2\*:7+8\*:5+10 y N0S1 para 1:7+8\*:5+10 integraron un gran grupo (Fig. 30).

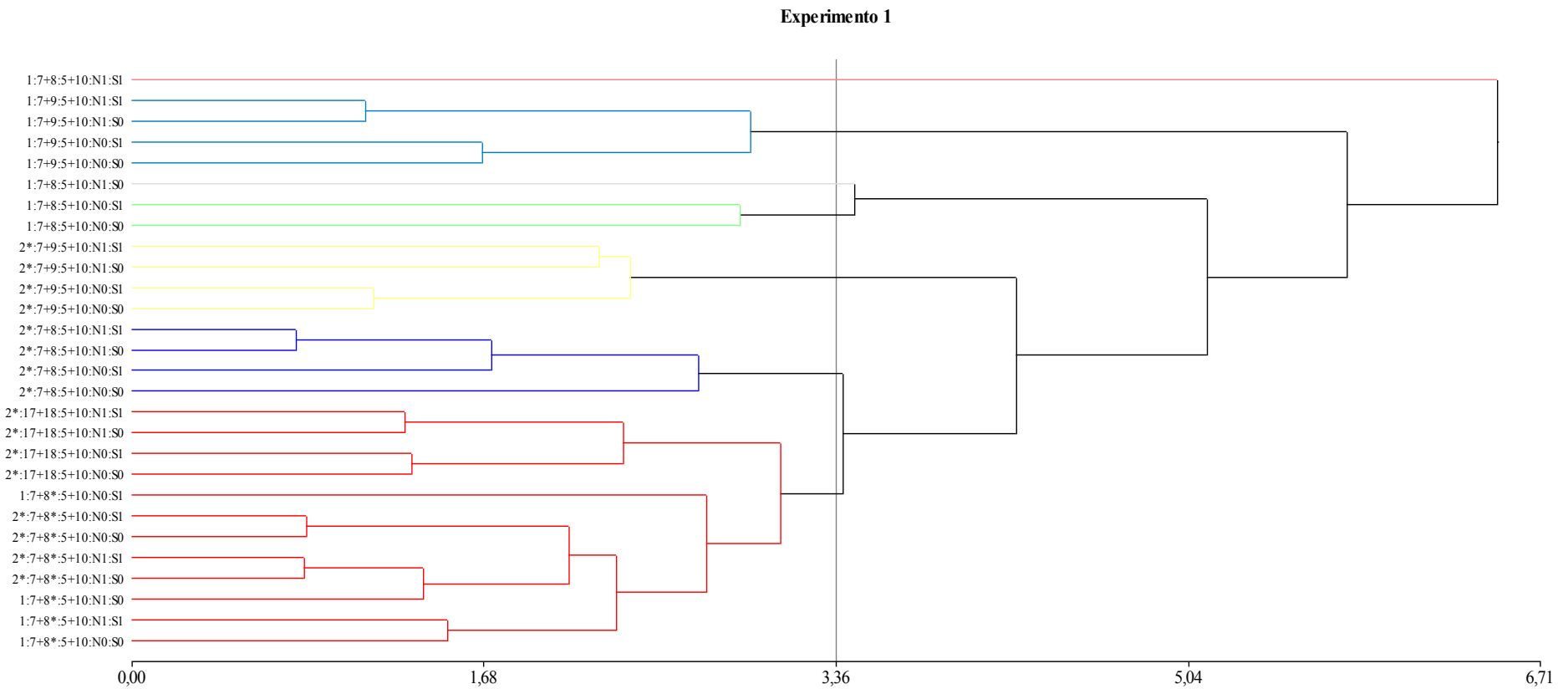


Figura 29: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de HMW (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 1 (E1). Línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima.

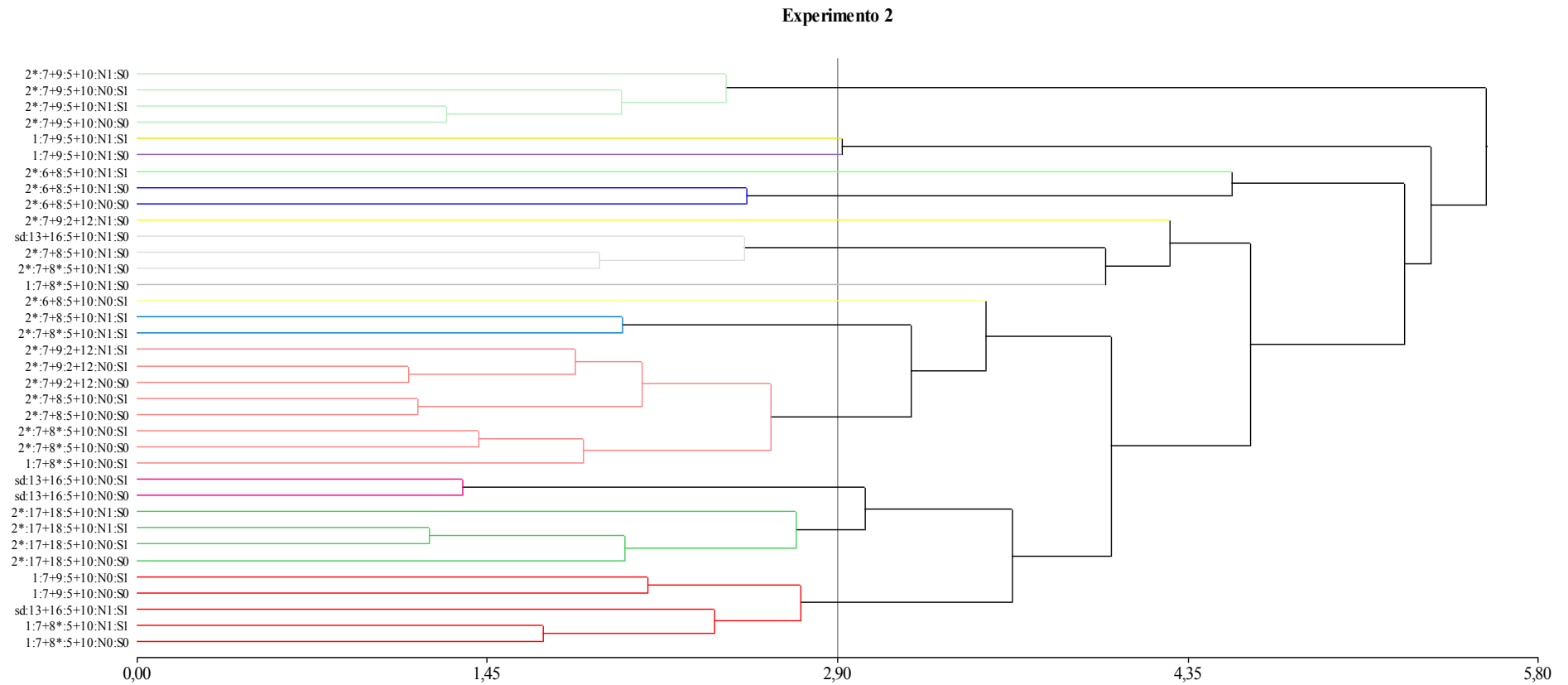


Figura 30: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de HMW (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 2 (E2). Línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima.

En E1, se conformaron 16 grupos al conglomerar por los tratamientos de fertilización y las combinaciones alélicas de los loci *Glu-3* (LMW). De esta manera, se distinguieron 4 grupos individuales formados por N1S1 para  $f:i:c$ , N1S0 y N1S1 para  $c:h:a$  y N0S0 para  $a:b:a$ ; y 6 grupos de 2 elementos formados por N1S0 y N1S1 para  $g:g:b$ , N0S0 y N0S1 para  $g:g:b$ , N0S0 y N0S1 para  $f:i:c$ , N1S0 y N1S1 para  $g:g:c$ , N0S0 y N0S1 para  $g:g:c$ , y N0S0 y N0S1 para  $b:g^*:c$ . A su vez, todos los tratamientos para  $f:g:a$  y N1S0 para  $f:i:c$  conformaron un grupo; todos los tratamientos para  $c:g^*:b$  otro grupo; todos los tratamientos para  $f:b:c$  y N1S0 y N1S1 para  $b:g^*:c$  otro grupo; todos los tratamientos para  $b:b:c$  otro grupo; todos los tratamientos para  $c:h:b$  otro grupo; y por último, N0S0 y N0S1 para  $c:h:a$  y N0S1, N1S0 y N1S1 para  $a:b:a$  formaron otro grupo (Fig. 31).

En E2, se conformaron 10 grupos al conglomerar por los tratamientos de fertilización y las combinaciones alélicas de los loci *Glu-3* (LMW). Así, se distinguieron 3 grupos individuales formados por N1S1 para  $d:g:c$ , N1S0 para  $b:g^*:0$  y N1S0 para  $c:e:b$ ; y 3 grupos de 2 elementos formados por N0S0 y N1S0 para  $d:g:c$ , N1S0 y N1S1 para  $g:g:b$ , y N1S0 para  $f:b:c$  y  $c:d:a$ . A su vez, todos los tratamientos para  $c:j:b$  conformaron un grupo y todos los tratamientos para  $c:g^*:b$  otro grupo. Por último, se observaron 2 grandes grupos, uno integrado por N0S1 para  $d:g:c$ ; N0S0, N0S1 y N1S1 para  $c:e:b$ ; N0S0 y N0S1 para  $f:b:c$ ; y N0S1 para  $b:g^*:c$ , y otro por todos los tratamientos para  $c:d:b$ ; N0S0, N0S1 y N1S1 para  $c:d:a$ ; N1S1 para  $f:b:c$ ; N0S0 y N0S1 para  $g:g:b$ ; y N0S0 y N1S1 para  $b:g^*:c$  (Fig. 32).

En E1, se conformaron 5 grupos al conglomerar por los tratamientos de fertilización y el tipo de gliadinas. Así, los tratamientos N1S0 y N1S1 para el tipo CNN se separaron del resto en forma individual, mientras que N1S0 y N1S1 para CSS formaron un grupo, N0S0 y N0S1 para CSS otro grupo y N0S0 y N0S1 para CNN otro grupo (Fig. 33).

En E2, se conformaron 6 grupos al conglomerar por los tratamientos de fertilización y el tipo de gliadinas. Así, los tratamientos N1S0 y N1S1 para ambos tipos de gliadinas se separaron del resto en forma individual, mientras que N0S0 y N0S1 para CSS formaron un grupo y N0S0 y N0S1 para CNN otro grupo (Fig. 34).

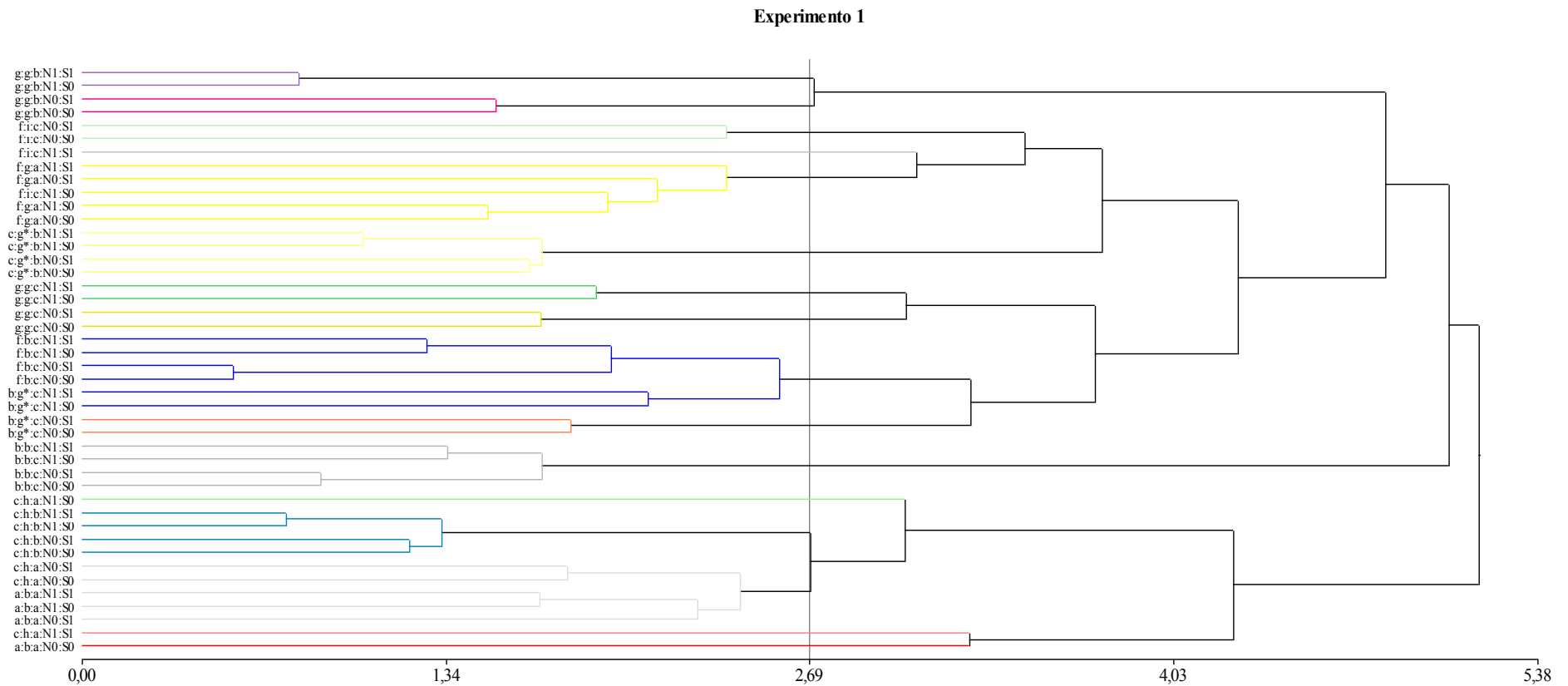


Figura 31: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de LMW (*Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 1 (E1). Línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima.

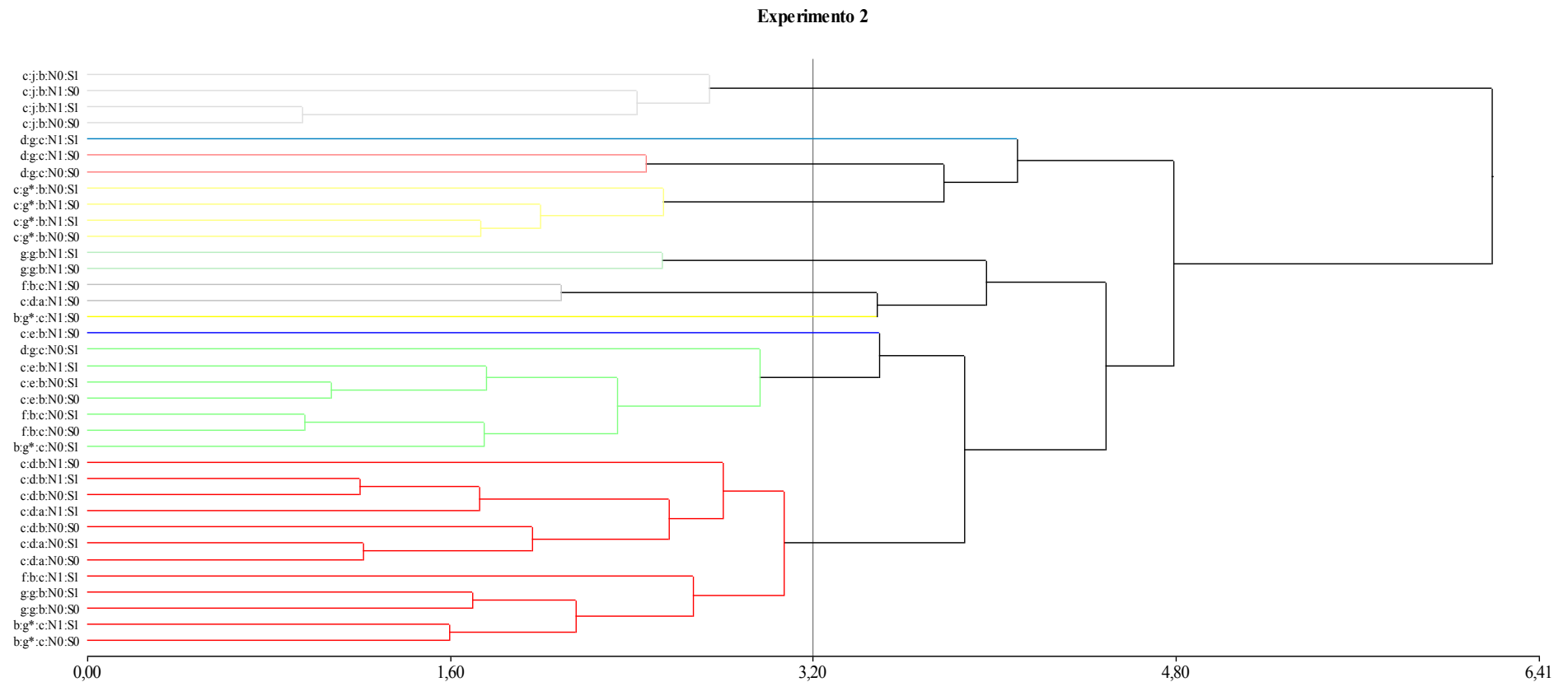


Figura 32: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación las variantes alélicas de los loci de LMW (*Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 2 (E2). Línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima.

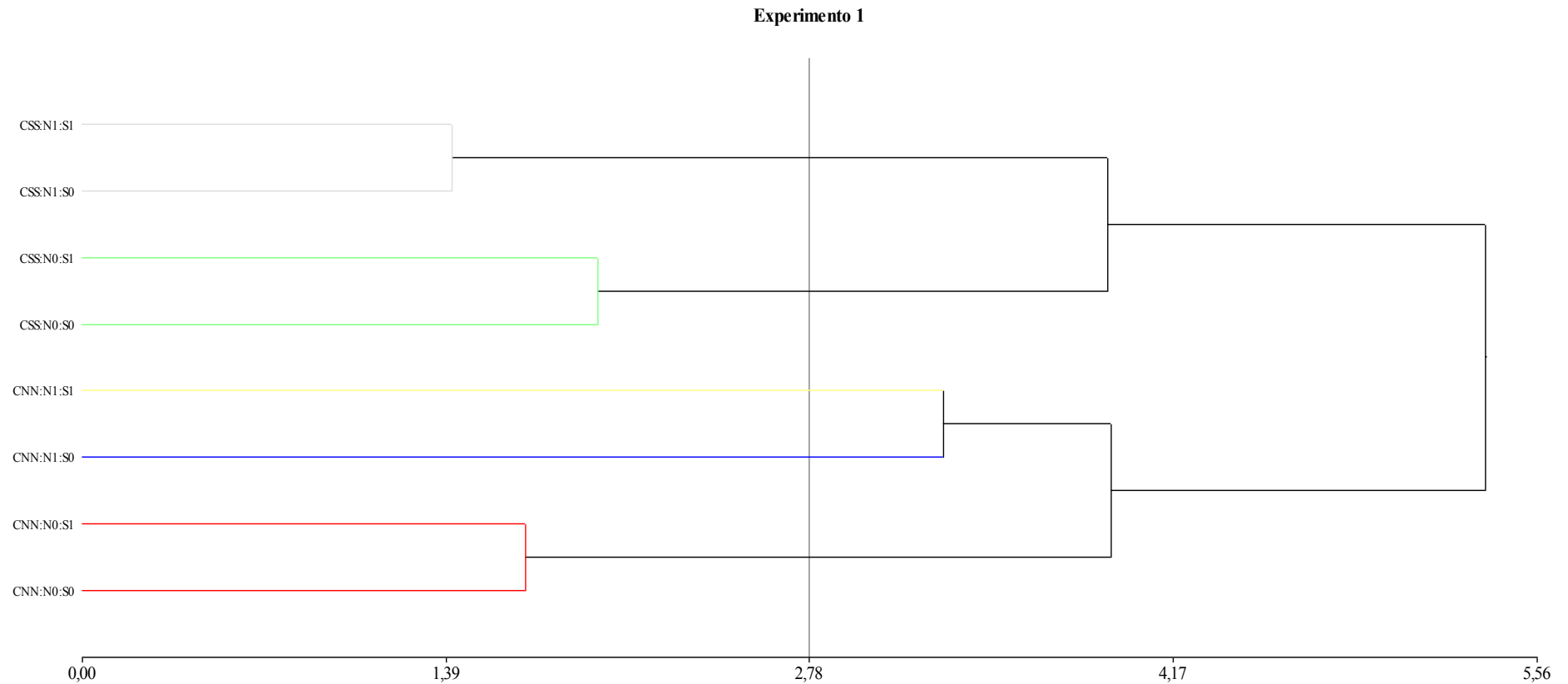


Figura 33: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación el tipo de gliadinas (CSS, CNN) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 1 (E1). Línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima.



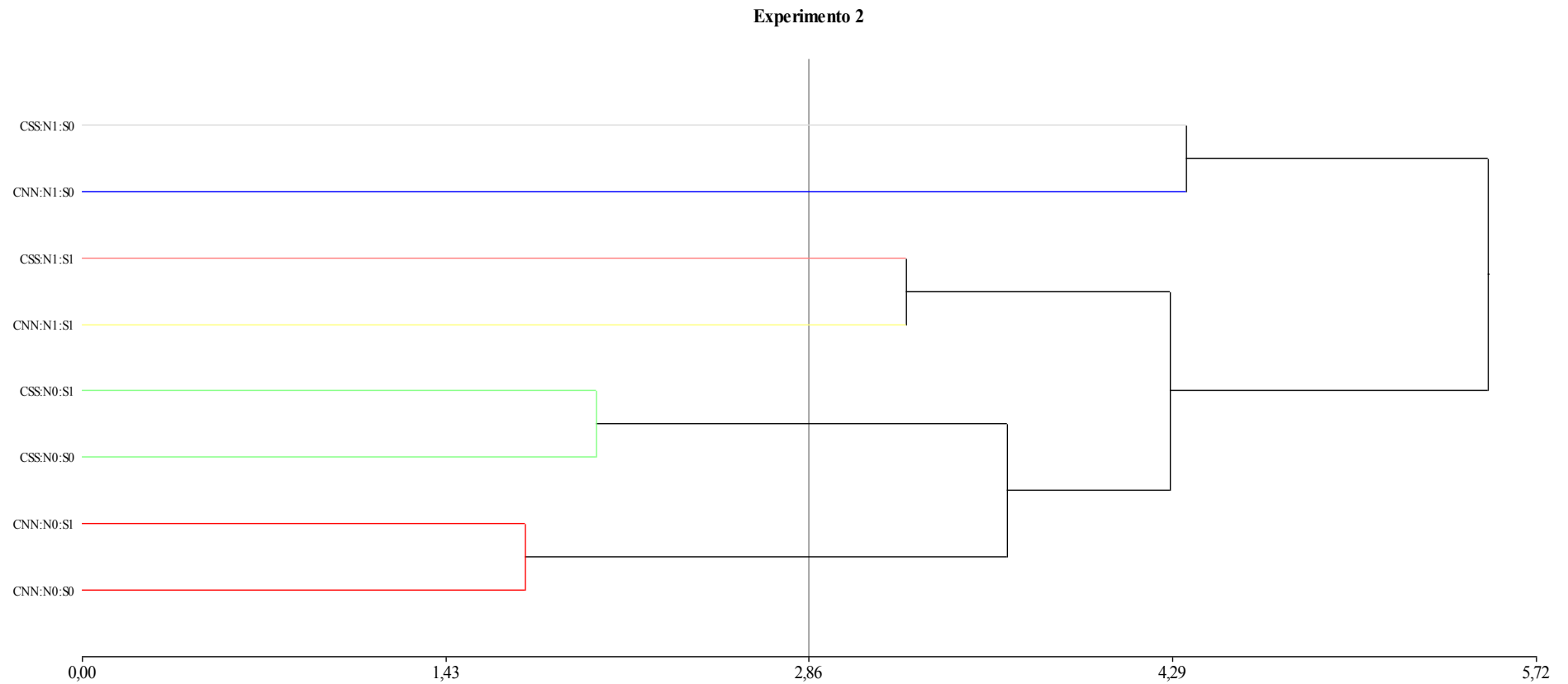


Figura 34: Análisis de conglomerados para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) utilizando como criterios de clasificación el tipo de gliadinas (CSS, CNN) y los tratamientos de fertilización (N0S0, N0S1, N1S0, N1S1) en el experimento 2 (E2). Línea de referencia a una distancia igual al 50 % de la distancia máxima.

#### 4.3.4 Relación entre atributos de calidad y la composición cuantitativa del gluten

La Fig. 35 y la Tabla 33 muestran el Análisis de Componentes Principales (ACP) que incluyó atributos de calidad y parámetros que definen la composición cuantitativa del gluten para el efecto genotípico (GC y SC ligados al cultivar) en ambos experimentos. Según la conformación de los CP, el eje X (CP1) indicó un aumento en el W y el %GH asociados a un incremento en Glu-B1x/HMW y a una disminución en Glu-D1x/HMW y GLI/GLU, y el eje Y (CP2) un aumento de HMW/LMW. A su vez, se formaron 4 diagonales que indicaron incrementos del SDSS, de Glu-D3/LMW, de Glu-B3/LMW y de P/L. De esta manera, los cambios en las proporciones de GLI/GLU y de algunas subunidades de HMW y LMW se asociaron con variaciones en el W, siendo independiente de la relación HMW/LMW. Esta última explicó parte de la variación en el P/L y el SDSS. En base a lo anterior se pueden definir 4 cuadrantes, con cambios en la calidad industrial y la composición cuantitativa del gluten.

Tabla 33: Autovectores correspondientes a cada variable del biplot de la Figura 35.

Variables	CP1	CP2
%Pro	0,19	0,10
%GH	0,27	0,19
SDSS	0,35	0,26
W	0,42	0,17
P/L	-0,24	-0,29
GLI/GLU	-0,22	0,07
HMW/LMW	-0,07	0,49
GLU-A1x/HMW	-0,03	-0,24
GLU-B1x/HMW	0,23	0,10
GLU-B1y/HMW	-0,02	0,21
GLU-D1x/HMW	-0,29	-0,21
GLU-D1y/HMW	0,00	0,10
GLU-A3/LMW	-0,35	0,20
GLU-B3/LMW	0,36	-0,38
GLU-D3/LMW	-0,24	0,40
$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	0,20	-0,15

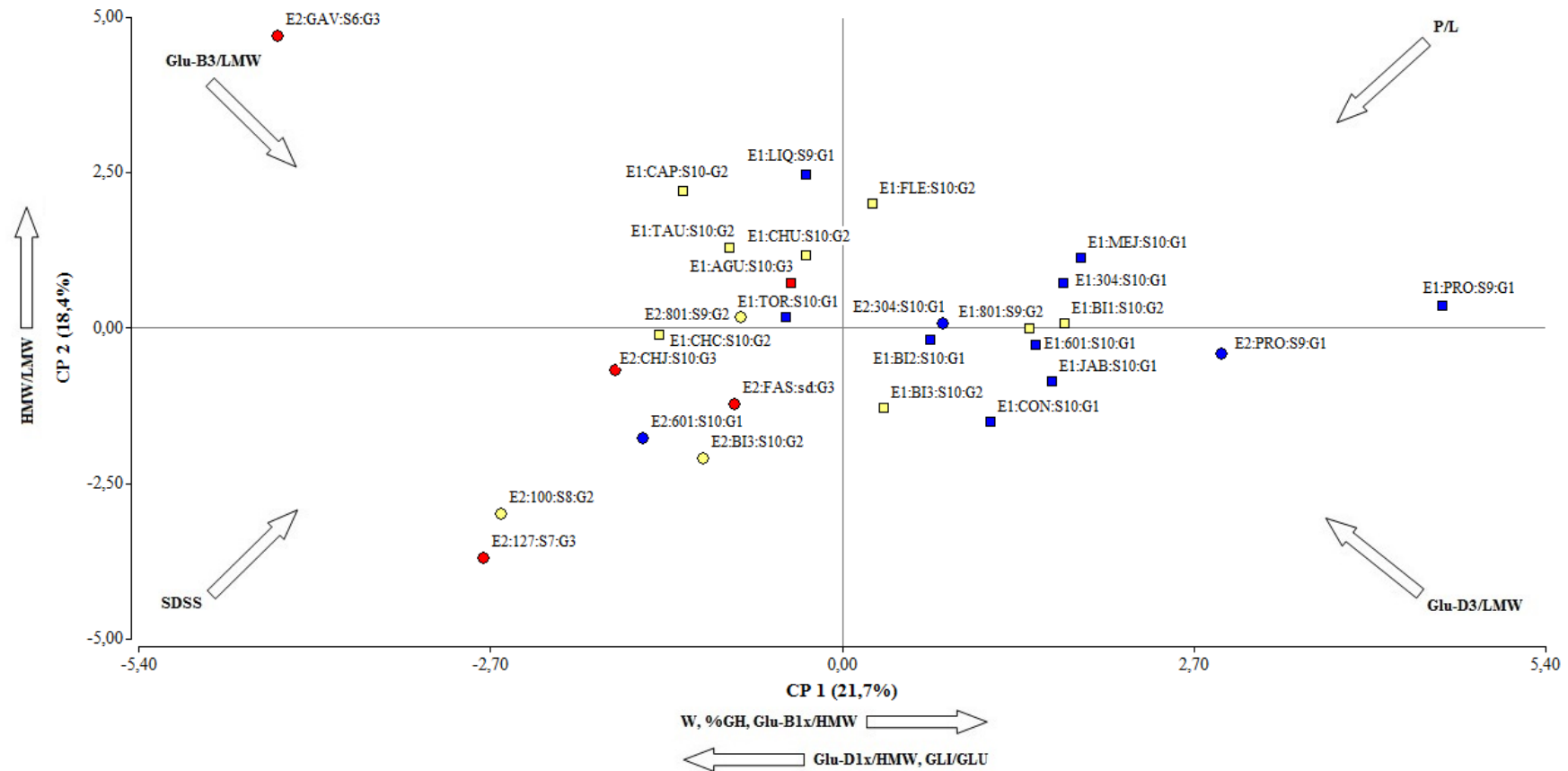


Figura 35: Efecto de la interacción entre grupo de calidad (GC=G) y *Glu-1* quality score (SC=S) dependientes del genotipo y ambiente asociado a cada experimento (E1, E2) sobre contenido de gluten (%GH), fuerza panadera (W), relación P/L (P/L), volumen de sedimentación (SDSS), relación entre el contenido de gliadinas y gluteninas (GLI/GLU), relación entre el contenido de subunidades de gluteninas de alto peso molecular y bajo peso molecular (HMW/LMW), relaciones entre los contenidos de algunas subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-1* respecto al total de gluteninas de alto peso molecular (*Glu-B1x*/HMW, *Glu-D1x*/HMW) y relaciones entre los contenidos de algunas subunidades de gluteninas codificadas por los loci *Glu-3* respecto al total de gluteninas de bajo peso molecular (*Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW) y asociación entre dichas variables. Cuadrados: E1, Círculos: E2. Azul: GC1, Amarillo: GC2, Rojo: GC3. Se muestra la proporción de los autovalores en cada uno de los ejes y los autovectores en la Tabla 22.

Se observó una primera agrupación por experimentos, ubicándose el 80 % de los genotipos del E2 en los cuadrantes de mala calidad panadera (izquierda), a excepción de 304 (CL) y PRO (CC). Los genotipos del E1 se distribuyeron en los cuadrantes de buena calidad panadera (derecha) y algunos en el de mala calidad pero asociado a una mayor relación HMW/LMW (izquierda-arriba). Dentro de cada experimento no se encontró un agrupamiento estricto por SC o GC para la calidad y la composición del gluten, y la variabilidad (dispersión de puntos) fue mayor en E2, pese al menor número de genotipos evaluados. Por otro lado, los cultivares presentes en ambos experimentos (BI3, 304, 601, 801 y PRO; GAV en E1 fue excluido del análisis) registraron cambios a lo largo del CP1 principalmente, registrando una mejor calidad panadera en E1, asociada a un incremento de *Glu-B1x*/HMW y disminuciones de *Glu-D1x*/HMW y GLI/GLU. Es de destacar el caso de PRO que presentó valores extremos en el CP1 asociados a buena calidad panadera, pese a su SC de 9. A la inversa, GAV se ubicó en valores extremos del CP1 asociados a mala calidad, y del CP2, que indicaron notables diferencias en la composición del gluten (principalmente HMW/LMW) al compararlo con otros genotipos del E2 con similar GC y SC (Fig. 35).

Al analizar las correlaciones entre atributos de calidad y las variables que definen la composición cuantitativa del gluten para todos los tratamientos de fertilización de los genotipos de ciclo largo y corto incluidos en ambos experimentos, se observó que el %Pro correlacionó significativamente con  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli, *Glu-B1y*/HMW, GLI/GLU, HMW/LMW y *Glu-D1y*/HMW (en orden decreciente de r) en forma positiva; y con *Glu-D1x*/HMW y *Glu-B1x*/HMW en forma negativa. A su vez, el %GH presentó asociación con las mismas variables y en el mismo sentido que el %Pro (Tabla 34).

El SDSS correlacionó positivamente con *Glu-B1x*/HMW y *Glu-D1y*/HMW, y negativamente con GLI/GLU, *Glu-D1x*/HMW y *Glu-A3*/LMW. Por su parte, el W se asoció positivamente con  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli, *Glu-D1y*/HMW y *Glu-B3*/LMW; y negativamente con *Glu-D1x*/HMW, *Glu-A3*/LMW, GLI/GLU y *Glu-D3*/LMW. Con respecto a los determinantes del W, el P correlacionó positivamente con  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli, *Glu-D1y*/HMW, GLI/GLU y *Glu-A1x*/HMW, y negativamente con *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D3*/HMW y *Glu-B1y*/HMW; mientras que el L correlacionó positivamente con *Glu-B1y*/HMW y HMW/LMW, y negativamente con GLI/GLU, *Glu-D1x*/HMW y *Glu-A3*/LMW (Tabla 34).

Tabla 34: Coeficientes de correlación de Pearson (r) y probabilidades (p-valor) entre atributos de calidad (V1) (%Pro: contenido de proteína, %GH: gluten húmedo, SDSS: volumen de sedimentación, W: fuerza panadera, P: tenacidad, L: extensibilidad) y variables que definen la composición cuantitativa del gluten (V2) (GLI/GLU, HMW/LMW, *Glu-A1x*/HMW, *Glu-B1x*/HMW, *Glu-B1y*/HMW, *Glu-D1x*/HMW, *Glu-D1y*/HMW, *Glu-A3*/LMW, *Glu-B3*/LMW, *Glu-D3*/LMW,  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli) para todos los tratamientos de fertilización y genotipos de ciclo largo y corto en ambos experimentos (E1, E2).

V1	V2	n	r	p-valor	V1	V2	n	r	p-valor
%Pro	GLI/GLU	347	0,19	**	%GH	GLI/GLU	347	0,11	*
%Pro	HMW/LMW	354	0,18	**	%GH	HMW/LMW	354	0,27	***
%Pro	Glu-A1/HMW	354	0,07	ns	%GH	Glu-A1/HMW	354	0,02	ns
%Pro	Glu-B1x/HMW	354	-0,15	**	%GH	Glu-B1x/HMW	354	-0,13	*
%Pro	Glu-B1y/HMW	354	0,26	***	%GH	Glu-B1y/HMW	354	0,32	***
%Pro	Glu-D1x/HMW	354	-0,29	***	%GH	Glu-D1x/HMW	354	-0,26	***
%Pro	Glu-D1y/HMW	354	0,17	**	%GH	Glu-D1y/HMW	354	0,11	*
%Pro	Glu-A3/LMW	354	-0,03	ns	%GH	Glu-A3/LMW	354	-0,06	ns
%Pro	Glu-B3/LMW	330	0,01	ns	%GH	Glu-B3/LMW	330	0,04	ns
%Pro	Glu-D3/LMW	354	-0,04	ns	%GH	Glu-D3/LMW	354	0,06	ns
%Pro	$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	351	0,54	***	%GH	$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	351	0,48	***

V1	V2	n	r	p-valor	V1	V2	n	r	p-valor
SDSS	GLI/GLU	347	-0,34	***	W	GLI/GLU	347	-0,17	**
SDSS	HMW/LMW	354	0,07	ns	W	HMW/LMW	354	0,09	ns
SDSS	Glu-A1/HMW	354	-0,05	ns	W	Glu-A1/HMW	354	0,09	ns
SDSS	Glu-B1x/HMW	354	0,23	***	W	Glu-B1x/HMW	354	0,09	ns
SDSS	Glu-B1y/HMW	354	0,05	ns	W	Glu-B1y/HMW	354	0,1	ns
SDSS	Glu-D1x/HMW	354	-0,34	***	W	Glu-D1x/HMW	354	-0,42	***
SDSS	Glu-D1y/HMW	354	0,12	*	W	Glu-D1y/HMW	354	0,18	**
SDSS	Glu-A3/LMW	354	-0,29	***	W	Glu-A3/LMW	354	-0,23	***
SDSS	Glu-B3/LMW	330	0,09	ns	W	Glu-B3/LMW	330	0,15	**
SDSS	Glu-D3/LMW	354	0,06	ns	W	Glu-D3/LMW	354	-0,14	**
SDSS	$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	351	-0,03	ns	W	$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	351	0,34	***

V1	V2	n	r	p-valor	V1	V2	n	r	p-valor
P	GLI/GLU	347	0,19	**	L	GLI/GLU	347	-0,26	***
P	HMW/LMW	354	0,04	ns	L	HMW/LMW	354	0,13	*
P	Glu-A1/HMW	354	0,12	*	L	Glu-A1/HMW	354	-0,09	ns
P	Glu-B1x/HMW	354	-0,02	ns	L	Glu-B1x/HMW	354	0,1	ns
P	Glu-B1y/HMW	354	-0,1	*	L	Glu-B1y/HMW	354	0,21	***
P	Glu-D1x/HMW	354	-0,17	**	L	Glu-D1x/HMW	354	-0,22	***
P	Glu-D1y/HMW	354	0,21	**	L	Glu-D1y/HMW	354	-0,01	ns
P	Glu-A3/LMW	354	0,05	ns	L	Glu-A3/LMW	354	-0,22	***
P	Glu-B3/LMW	330	0,01	ns	L	Glu-B3/LMW	330	0,07	ns
P	Glu-D3/LMW	354	-0,17	**	L	Glu-D3/LMW	354	0,07	ns
P	$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	351	0,29	***	L	$\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli	351	0,1	ns

Nota: \*, \*\* y \*\*\* corresponden a  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  y  $p < 0,0001$

#### 4.4 DISCUSIÓN

En el presente capítulo se analizó la influencia de la fertilización nitrogenada y azufrada sobre la composición cuantitativa del gluten y su relación con parámetros de calidad industrial en un grupo numeroso de genotipos de trigo pan con diferente patrón proteico y de distinto ciclo, planteando experimentos durante dos campañas en ambientes con diferente manejo y fertilidad de suelo en la ciudad de Azul, Buenos Aires.

Se detectó variabilidad genética en los patrones de gliadinas y gluteninas entre los cultivares evaluados (Tabla 25). Las combinaciones alélicas obtenidas fueron comparadas con las reportadas por Lerner *et al.* (2009), quienes evaluaron 119 cultivares de trigo hexaploide registrados en Argentina, liberados entre 1979 y 2007. De los 24 genotipos utilizados en esta tesis, 20 fueron comunes al citado trabajo y 3 (100, 127, FAS) fueron liberados posteriormente al mercado. Se encontró concordancia en la mayoría de los alelos identificados, aunque la discrepancia es común entre distintos autores, principalmente para las LMW. La nomenclatura *Glu-3* no ha sido consistente entre laboratorios, debido a la complejidad de las LMW y los distintos métodos de separación utilizados por diferentes investigadores (Ikeda *et al.*, 2008). De estos métodos (SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF-MS, PCR), PCR resultó la técnica más precisa, simple y de menor costo, siendo recomendada para la identificación de alelos de *Glu-A3* y *Glu-B3* en programas de mejoramiento. Sin embargo, se requiere una combinación de técnicas para identificar ciertos alelos, y sería especialmente útil cuando se caracterizan nuevos alelos (Liu *et al.*, 2010).

Con respecto a la variabilidad alélica para cada locus, *Glu-B1* fue el que presentó mayor número de variantes dentro de las HMW, y *Glu-A3* y *Glu-B3* dentro de las LMW (Tabla 25). A su vez, se encontró una mayor proporción de genotipos con gliadinas tipo CSS, coincidiendo con lo reportado por Lerner *et al.* (2009); mientras que la frecuencia de la subunidad 7oe fue levemente mayor y la de Introgresión de centeno (1RS/1BL) notablemente menor a las observadas en el citado trabajo. Estos autores compararon sus resultados con los obtenidos por Gianibelli *et al.* (2002), quienes evaluaron 107 cultivares argentinos de liberación previa al mercado, concluyendo que las consecuencias para la calidad de los cambios en las frecuencias alélicas serían mínimas. Además, encontraron notables diferencias con los resultados obtenidos por Branlard *et al.* (2003) en aproximadamente 200 variedades francesas; y ciertas similitudes con lo observado por Shan *et al.* (2007) en una colección de 111 variedades estadounidenses de trigo blanco duro invernal. Por otro lado, la mayor proporción de los genotipos evaluados presentó el valor máximo de SC (*Glu-1 quality score* = 10), mostrando elevado potencial de calidad según su patrón alélico de HMW. Sin embargo, estos se distribuyeron en los distintos GC, demostrando la falta de correlación de dicho score con el fenotipo, probablemente debido a la incidencia de otras fracciones proteicas y su interacción con el ambiente.

La relación GLI/GLU presentó valores promedio superiores en E2, principalmente en los CC, lo cual evidencia el efecto de la fertilidad del ambiente sobre el balance entre las fracciones proteicas. El G resultó la principal FV, aunque su importancia relativa fue mayor en E1, coincidiendo con lo observado para PMG, N/S y atributos de calidad como P y P/L. Esto coincide con lo reportado por Pechanek *et al.* (1997), quienes encontraron que el cambio en GLI/GLU estuvo, probablemente, más influenciado por el genotipo y el ambiente que por el contenido de proteínas asociado a la fertilización nitrogenada. A su vez, las interacciones G\*N y G\*S resultaron significativas solo en E1, observando una mayor proporción de genotipos estables entre

niveles de ambos nutrientes (Tabla 27). La fertilización nitrogenada incrementó levemente la GLI/GLU promedio en E1 independientemente del nivel de S y de manera notable en E2 solo cuando no se fertilizó con S. De esta manera, el agregado de S junto con altas dosis de N en el ambiente de baja fertilidad disminuyó significativamente la GLI/GLU, generando una composición del gluten similar a la de los tratamientos con bajo nivel de N (Fig. 24). Esto coincide con lo informado por Wieser *et al.* (2004) y Zörb *et al.* (2009), quienes informaron una disminución de dicha relación al incrementar el nivel de S en experimentos en macetas, con cambios de mayor magnitud en la fracción total de gluteninas.

El C generó cambios en distinto sentido en cada experimento, observando para los CC una relación GLI/GLU promedio menor en E1 y mayor en E2. En el primer caso, las condiciones durante el llenado de granos fueron similares entre ciclos debido a que las fechas de floración no variaron sustancialmente, pudiendo explicarse las diferencias por diferencias genotípicas o en la absorción de nutrientes en prefloración (el %S fue mayor en los CC con bajo nivel de N). En el segundo caso, el incremento en la GLI/GLU en los CC pudo deberse a la mayor temperatura registrada durante la fase de llenado de granos producto del atraso en la floración, coincidiendo con lo reportado por Dupont y Altenbach (2003).

La relación HMW/LMW exhibió valores promedio notablemente superiores en E1 para los CL y levemente superiores en el mismo experimento para los CC, mostrando el efecto de la fertilidad del ambiente y la longitud del ciclo sobre la composición de gluteninas. Sin embargo, al igual que para GLI/GLU, el G resultó la principal FV para HMW/LMW en ambos experimentos, incluso con mayor magnitud de los efectos. Esto coincide con lo reportado por Luo *et al.* (2000), quienes encontraron una mayor variación de los contenidos de HMW y LMW debida al genotipo que al tratamiento de fertilización nitrógeno-azufrada, en un experimento a campo que incluyó 14 genotipos de trigo neozelandeses. El agregado de N tendió a incrementar la relación en ambos experimentos, aunque se registraron interacciones dobles y triples. De esta manera, se observó una mayor proporción de genotipos estables entre niveles de N en E1, posiblemente debido a la mayor fertilidad inicial de este ambiente (Tabla 28). En acuerdo con esto, otros autores encontraron que la HMW/LMW mostró un incremento consistente asociado al aumento en el contenido de proteína como consecuencia de la fertilización nitrogenada (la cantidad relativa de HMW aumentó y la de LMW decreció) (Singh *et al.*, 1990; Pechanek *et al.*, 1997).

Por su parte, el efecto principal del S fue significativo solo en E2, coincidiendo con lo encontrado para otros atributos de rendimiento y calidad, y presentó interacción con el nivel de N. Así, la fertilización azufrada disminuyó la relación HMW/LMW solo con alto nivel de N, revelando la incidencia de la deficiencia de S sobre la composición de gluteninas en este tipo de ambiente (Tabla 28). El aumento en la disponibilidad de S favoreció la acumulación de gluteninas S-ricas (LMW) en desmedro de las S-pobres (HMW), lo cual puede ser explicado por una mayor proporción de aminoácidos azufrados en las primeras (3-5 % mol) que en las segundas (1-2 % mol) (Shewry *et al.*, 2009). Coincidiendo con esto, otros autores reportaron una disminución de HMW/LMW al incrementar la dosis de S con suficiencia de N, en experimentos con macetas en invernáculos (Wieser *et al.*, 2004; Zörb *et al.*, 2009). En contraposición, Luo *et al.* (2000) no detectaron cambios en la cantidad de HMW y LMW debidos a distintos tratamientos de fertilización con N y S en condiciones de campo.

Por último, los CC presentaron mayores valores promedio de HMW/LMW que los CL, siendo las diferencias de mayor magnitud en E2. Considerando lo discutido previamente, esto podría estar asociado al mayor contenido proteico observado en los

CC. En este caso, la mayor temperatura registrada durante el llenado de granos para los CC en E2 se asoció con un incremento de HMW/LMW, difiriendo de lo reportado por Don *et al.* (2005), quienes encontraron una menor relación con períodos de estrés térmico en dicha fase.

La composición de gluteninas de alto peso molecular, expresada como las proporciones de las diferentes subunidades codificadas por los loci *Glu-1* respecto al total de HMW, fue afectada por diferentes factores asociados al genotipo, la fertilización y el ambiente. Sin embargo, el G resultó la principal FV para todas las subunidades, a excepción de *Glu-B1y*/HMW en E2, que presentó mayor incidencia del C y el nivel de N (Tabla 29). Con efectos de menor magnitud, el agregado de N tendió a disminuir las proporciones de subunidades tipo-x y a incrementar las de tipo-y para los loci *Glu-B1* y *Glu-D1* en ambos experimentos, mientras que no afectó la proporción de *Glu-A1x* en E1 y la incrementó en E2. En relación a esto, Wieser y Seilmeier (1998) reportaron que la cantidad de subunidades tipo-x aumentó más que la de tipo-y al fertilizar con N, incrementando la relación tipo-x/-y, en ensayos a campo con numerosos genotipos en dos localidades de Alemania. Por otro lado, el efecto principal del S fue significativo solo para algunas subunidades en el ambiente con fertilidad limitante (E2).

Es de destacar el caso del locus *Glu-B1y*, que no presentó ningún tipo de interacción entre el G y la disponibilidad de nutrientes, pese a la notable variabilidad alélica observada (Tablas 25 y 29). Coincidiendo con lo encontrado para distintas subunidades, Pechanek *et al.* (1997) reportaron cambios en distinto sentido de la relación tipo-x/-y al fertilizar con N en condiciones de campo, dependiendo del genotipo y la localidad. A su vez, observaron que cultivares de buena calidad presentaron una mayor relación tipo-x/-y.

Por último, el C afectó las proporciones de las distintas subunidades, con cambios en distinto sentido que dependieron del experimento. Estas respuestas diferenciales entre los tipos -x e -y podrían estar relacionadas con aspectos estructurales de las proteínas. Las subunidades de HMW comparten 4 dominios estructurales similares, incluyendo un péptido señal que es removido en la proteína madura, extremos N-terminal y C-terminal altamente conservados, y un dominio repetitivo intermedio (Shewry *et al.*, 2003). En el N-terminal, los tipos -x comparten 81-86 residuos aminoácidos (aa) y 3 cisteínas, mientras que los tipos -y comparten 104 aa y 5 cisteínas. Tanto los tipos -x como los -y comparten 21 aa en el péptido señal y 42 aa en el C-terminal. En los dominios centrales más grandes, hay tres unidades de repetición de hexapéptidos (PGQGQQ), nonapéptidos (GYPTSPQQ), y tripéptidos (GQQ). Las unidades de hexapéptidos y nonapéptidos existen tanto en los tipos -x como en los -y, mientras que los tripéptidos sólo se producen en los tipos -x (Shewry *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2014).

Las proporciones de las diferentes subunidades codificadas por los loci *Glu-3* respecto al total de LMW, que definen la composición de gluteninas de bajo peso molecular, fueron afectadas por diferentes factores, aunque el G resultó la principal FV independientemente del ambiente explorado por el cultivo (Tabla 30). Los efectos de la fertilización con ambos nutrientes fueron complejos ya que dependieron del G y el ambiente asociado a cada experimento. Cabe destacar que solo se registró significancia del efecto principal del S en el ambiente con fertilidad limitante (E2) para las subunidades codificadas por los loci *Glu-B3* y *Glu-D3*, incrementando la proporción de las segundas en detrimento de las primeras. Con respecto a los antecedentes, en trabajos previos solo se estudiaron los cambios en la fracción total de LMW debidos a efectos genotípicos, ambientales y sus interacciones.



La relación  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli mostró valores promedio superiores en el ambiente de baja fertilidad (E2), observándose mayores respuestas a la fertilización nitrogenada y azufrada (Fig. 26). De esta manera, la fertilización nitrogenada incrementó la proporción de gliadinas S-pobres ( $\omega$ -gli), mientras que el agregado de S tendió a contrarrestar dicho efecto, coincidiendo con lo reportado por Wieser *et al.* (2004) y Zörb *et al.* (2009) en experimentos con macetas y por Godfrey *et al.* (2010) en condiciones de campo. Esto se debe a una mayor proporción de aminoácidos azufrados en las  $\alpha$ - $\gamma$ -gli (3-5 % mol) que en las  $\omega$ -gli (generalmente ausente) (Shewry *et al.*, 2009).

Con respecto a la interacción GxA, es de destacar el caso del cultivar PRO, que presentó el mayor valor promedio de  $\omega$ -gli/ $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -gli en ambos experimentos (Tabla 31). A su vez, fue el único genotipo en E2 que presentó un incremento de la fracción S-pobre al agregar S en condiciones de alto N. De forma similar, otros autores observaron diferencias genotípicas en las respuestas de la composición de gliadinas a la fertilización azufrada en trigo invernal (Zörb *et al.*, 2009) y a la fertilización nitrógeno-azufrada en trigo candeal (Rogers *et al.*, 2006). Por último, el C generó cambios en distinto sentido dependiendo del experimento. En relación a esto, DuPont *et al.* (2006a) hallaron que elevada temperatura en post-floración aumentó en mayor proporción la tasa de acumulación de proteínas S-pobres que de S-ricas en el grano obteniendo harinas de alto contenido proteico. Sin embargo, el efecto de la temperatura sobre la composición de las harinas fue generalmente de menor magnitud que el efecto de los nutrientes minerales (DuPont *et al.*, 2006b).

Para las variedades que presentaron introgresión con centeno (E1: CAS y GAV, E2: GAV) se estudiaron los efectos de los distintos factores sobre la proporción de secalinas respecto al total de gliadinas (SEC/GLI), detectando notables diferencias genotípicas. El manejo de la fertilización modificó la cantidad relativa de secalinas y en consecuencia la composición de gliadinas, pudiendo contrarrestar parcialmente el efecto negativo de la introgresión con centeno sobre la calidad del trigo (Fig. 28).

Los cambios en la composición del gluten debidos a la interacción entre el perfil proteico de HMW asociado al genotipo y los tratamientos de fertilización difirieron entre ambientes. Para los loci *Glu-1* en el ambiente de mayor fertilidad (E1), se observaron agrupamientos por combinaciones alélicas principalmente, demostrando una mayor importancia relativa del efecto genotípico sobre la composición proteica. Los genotipos no se agruparon estrictamente por el SC. Sin embargo, se encontraron similitudes dentro del SC máximo (10), entre aquellos cultivares que presentaron sobreexpresión de la subunidad Bx7 (*Glu-B1*: 7+8\*) y aquellos que presentaron las subunidades 17+18 (*Glu-B1*) (Tabla 25 y Fig. 29). En cambio, para los loci *Glu-1* en el ambiente limitante (E2), se observaron agrupamientos de distinto tipo en base a las combinaciones alélicas y los tratamientos de fertilización. Así, las respuestas de la composición proteica ante cambios en la disponibilidad de N y S difirieron notablemente entre perfiles proteicos de HMW. Las combinaciones 2\*:7+9:5+10 y 2\*:17+18:5+10 fueron las únicas que presentaron estabilidad entre niveles de nutrientes, debido a que formaron grupos que incluyeron a todos los tratamientos de fertilización, en forma similar a lo observado en E1. Para el resto de las combinaciones, los tratamientos con fertilización combinada (N1S1) tendieron a presentar similitudes con los de bajo nivel de N (N0S0, N0S1), mientras que los de fertilización nitrogenada (N1S0) tendieron a agruparse exhibiendo claras diferencias con los anteriores (Fig. 30).

Cabe aclarar que para los agrupamientos por los loci *Glu-1* no se tuvo en cuenta la introgresión con centeno (Int), lo cual fue considerado para los loci *Glu-3* (*Glu-B3j*). En forma similar, otros autores han reportado interacciones entre el perfil alélico de

HMW y distintos factores asociados al ambiente y/o al manejo del cultivo. Así, Pechanek *et al.* (1997) mostraron que el efecto del contenido de N en grano (asociado a la fertilización nitrogenada) sobre la composición proteica no fue consistente, variando dicha respuesta entre cultivares con diferente *Glu-1 quality score*. De la misma manera, Zhu *et al.* (1999) reportaron que cultivares con diferentes alelos de subunidades de HMW mostraron efectos diferenciales de la nutrición nitrogenada sobre los polímeros de gluteninas y la calidad industrial. Estos estudios indican que al aumentar la disponibilidad de N tiende a haber efectos negativos en la calidad panadera debido a un incremento de la relación GLI/GLU, pero este efecto puede diferir entre cultivares. Por su parte, Naeem *et al.* (2012) encontraron que la presencia de subunidades de HMW asociadas a fuerza de gluten pareció conferir una mayor tolerancia al estrés térmico en cuanto a calidad de las masas. Con respecto a esto, líneas que poseen la variante alélica 5+10 (masas fuertes) comenzaron a acumular grandes polímeros varios días antes que las que poseen la variante 2+12 (gluten débil) y mantuvieron dichos valores elevados hasta la madurez. Esto puede ser explicado por una polimerización más rápida como resultado de una mayor concentración de residuos de cisteína en las subunidades tipo x- de HMW. Similarmente, Don *et al.* (2005) observaron que una línea 2\*:17+18:5+10 pareció ser más resistente al estrés por calor que las líneas 2\*:17+18:2+12, 0(nulo):17+18:5+10 y 0(nulo):17+18:2+12 en cuanto a la formación de proteínas y del macropolímero de glutenina, siendo este último componente el más sensible. Por otro lado, Saint Pierre *et al.* (2008b) no encontraron interacciones significativas del genotipo (distintos perfiles de HMW) con el nivel de N y el riego sobre la calidad y la composición de proteínas y las propiedades reológicas de la masa. Sin embargo, los genotipos de calidad y composición de proteínas similares respondieron de manera similar a la fertilización con N y tratamientos de estrés. Recientemente, Labuschagne *et al.* (2016) reportaron que el estrés por calor y la sequía presentaron efectos similares sobre la proteína, mientras que el estrés por frío provocó diferentes efectos. A su vez, encontraron que la subunidad *Glu-D1*: 2 fue poco influenciada y *Glu-D1*: 12 se redujo por todas las condiciones de estrés, mientras que *Glu-A1*: 2\* y *Glu-B1*: 17 se incrementaron significativamente por el calor y la sequía en uno de los cultivares.

Con respecto al S, Tea *et al.* (2005) registraron diferencias en el efecto de la fertilización foliar azufrada sobre la dinámica de acumulación de proteínas poliméricas durante el llenado de granos en genotipos con diferentes alelos para *Glu-D1* (5+10 vs. 3+12). A su vez, Zorb *et al.* (2009) reportaron incrementos de las subunidades *Glu-B1x7*, *Glu-B1y9* y una no especificada de HMW, así como de la sintasa de almidón (GBSSI) con fertilización azufrada tardía, en dos cultivares que comparten las variantes alélicas 7+9 y 5+10. Sin embargo, el efecto sobre la composición total del gluten difirió entre cultivares. Los efectos del S sobre la calidad industrial son explicados por un cambio en la distribución de pesos moleculares (DPM) de gluteninas a valores más bajos a causa de dichos cambios en la composición (Naeem *et al.*, 2012). De esta manera, al agregar S en condiciones de alta disponibilidad de N, se obtienen granos con una composición proteica similar que en condiciones de bajo N (Godfrey *et al.*, 2010), aunque dichas respuestas pueden variar en función del perfil proteico asociado al genotipo.

En forma similar a lo observado para las HMW, los cambios en la composición del gluten debidos a la interacción entre el perfil proteico de LMW asociado al genotipo y los tratamientos de fertilización difirieron entre ambientes de cultivo. Sin embargo, se observó una mayor incidencia de la fertilización, difiriendo la importancia de cada nutriente entre experimentos. Para los loci *Glu-3* en el ambiente de mayor fertilidad (E1), se observaron agrupamientos por combinaciones alélicas y por nivel de N

principalmente; mientras que en el ambiente limitante (E2), se encontraron agrupamientos de distinto tipo en base a las combinaciones alélicas y los tratamientos de fertilización, adquiriendo importancia el nivel de S (Fig. 31 y 32). Así, al fertilizar con S en condiciones de alto N, algunas combinaciones alélicas ( $c:e:b$ ,  $c:d:a$  y  $b:g*:c$ ) presentaron una composición proteica similar que en condiciones de bajo N, coincidiendo con el tipo de respuesta observado por Godfrey *et al.* (2010).

En base a lo antes expuesto, el tipo de respuesta a la fertilización dependió de la combinación total de LMW y no de variantes alélicas particulares para cada locus. Sin embargo, se pueden destacar las variantes *Glu-A3g* y *Glu-B3g* que se asociaron con respuestas significativas al agregado de N y estabilidad entre niveles de S con alto nivel de N. La variante *Glu-B3g* fue asociada con buena calidad superando a *Glu-B3j* (Meng *et al.*, 2007) y *Glu-B3c'* (Oury *et al.*, 2010), y de similar desempeño que *Glu-B3d* y *Glu-B3h* (Figueroa *et al.*, 2011) y que *Glu-B3b'* y *Glu-B3c* (Oury *et al.*, 2010). Otro caso a destacar es el de las variantes *Glu-B3g\** y *Glu-B3d* (buena calidad) que presentaron estabilidad entre niveles de nutrientes en E2, al igual que *Glu-B3j*. Esta última se asocia con la presencia de introgresión con centeno, teniendo un impacto negativo en la calidad panadera del trigo, ya que proporciona poca tolerancia al amasado y bajo volumen de pan. Esto es explicado por la pérdida de un grupo de subunidades de LMW y gliadinas ( $\omega$ -gliadinas), siendo reemplazados por secalinas (Martín y Carrillo, 1999).

En forma similar a lo antes descrito, Pompea *et al.* (2009) reportaron que el efecto de la disponibilidad de S sobre parámetros de calidad de grano difirió significativamente entre cultivares y entre ambientes para trigo candeal en Italia. En este caso, las diferencias entre cultivares en cuanto a la respuesta a S fueron de tipo cuantitativa. El estudio preliminar de la composición de proteínas del gluten de uno de los cultivares, realizado por electroforesis bidimensional, reveló tres bandas de proteínas con expresión diferencial entre niveles de S, todas pertenecientes a las subunidades de LMW; y diez bandas con expresión diferencial entre las condiciones de regadío y de secano, una perteneciente a las subunidades de HMW y nueve a las de LMW. Sin embargo, las bases genéticas de las interacciones observadas no fueron identificadas. Por otro lado, Zörb *et al.* (2009) encontraron diferencias en los patrones de respuesta de dos genotipos de trigo pan a la fertilización con S en distintas dosis y momentos de aplicación sobre las concentraciones de LMW S-ricas y otras fracciones S-pobres. Estos cambios en la composición proteica pudieron tener impacto sobre la calidad industrial de uno de los cultivares. A su vez, mediante el análisis del proteoma, estos autores identificaron 380 proteínas, de las cuales un conjunto de 11-14 % difirieron notablemente debido a la fertilización azufrada tardía en ambos cultivares. La mayor parte de estas proteínas (81 % y 76 % para cada uno de los cultivares) fueron reguladas positivamente por el agregado de S, pero otras negativamente (18 % y 24 % para cada uno de los cultivares).

Los cambios en la composición del gluten debidos a la interacción entre el perfil de gliadinas (tipos CSS y CNN) asociado al genotipo y los tratamientos de fertilización también difirieron entre ambientes de cultivo (Fig. 33 y 34). Masci *et al.* (1991) reportaron que cultivares con bloques de gliadinas de tipo CNN presentaron mejores características de calidad que bloques de tipo CSS. En esta tesis, los perfiles de gliadinas asociados con buena calidad tendieron a presentar mayores respuestas al S en condiciones de alto N en el ambiente de mayor fertilidad, mientras que no evidenciaron diferencias con los perfiles asociados con baja calidad en cuanto a su respuesta a la fertilización combinada en el ambiente limitante.

Se encontraron distintas asociaciones entre atributos de calidad y la composición del gluten, en función de los efectos genotípicos en ambos experimentos (Fig. 35). En base a estas relaciones, el ambiente generó los cambios de mayor magnitud en la calidad de grano y la composición del gluten, encontrando menor calidad panadera y mayor variabilidad entre genotipos (en relación al n° de genotipos evaluados en cada experimento) en el ambiente de menor fertilidad (E2).

A su vez, no se registraron claros agrupamientos de los genotipos por GC o SC dentro de cada experimento, evidenciando el impacto de otros atributos relacionados con la calidad del grano. Los genotipos 304 (CL, perfil 2\*:7+8\*:5+10:f:b:c:CNN, SC10, GC1) y PRO (CC, perfil 1:7+9:5+10:g:g:b:CSS, SC9, GC1) presentaron buena calidad panadera en los distintos ambientes, siendo extremos los valores de W y %GH para el segundo cultivar (Fig. 35). Similarmente, Hristov *et al.* (2010) observaron que genotipos con alto %Pro no reaccionaron a condiciones ambientales extremas como fue el caso de los genotipos con elevados valores de SDSS y volumen de pan, al realizar un estudio de la interacción GxA sobre la calidad de 20 cultivares de trigo con distinto perfil de HMW, durante 3 campañas en 5 sitios del sudeste de Europa. A su vez, encontraron que los tres parámetros de calidad fueron más influenciados por el ambiente asociado al sitio que por el año, resultando el principal factor determinante. Estos autores concluyen que genotipos con diferentes alelos para el locus *Glu-D1* pueden ser recomendados para el cultivo en el sureste de Europa, ya que no hubo diferencias en los valores medios de las variables analizadas. Sin embargo, indican que un gran número de rasgos debe estudiarse para sacar conclusiones fiables sobre la calidad del trigo y que resulta necesario tener en cuenta las diferencias en la capacidad de adaptación del %Pro a los cambios ambientales positivos o negativos. Por su parte, Luo *et al.* (2000) también reportaron genotipos de buena calidad y estabilidad entre ambientes, al evaluar 14 genotipos de trigo con diferentes tratamientos de N y S.

Al analizar las correlaciones entre atributos de calidad y las variables que definen la composición del gluten para todos los genotipos y tratamientos de fertilización en ambos experimentos, se observó que al incrementarse el %Pro y el %GH, aumentó la proporción de gliadinas y dentro de estas las S-pobres, y la proporción de HMW (S-pobres) y dentro de estas la subunidad *Glu-D1y* en detrimento de *Glu-D1x* y *Glu-B1x* (Tabla 34). Similarmente, Dupont *et al.* (2006a) reportaron incrementos de distintos tipos de gliadinas S-pobres y disminución de las S-ricas al aumentar el contenido de proteína en harinas de trigos sometidos a distintos regímenes de temperatura y nutrición mineral durante el desarrollo del grano, mientras que la relación HMW/LMW no difirió. En cambio, Pechanek *et al.* (1997) encontraron asociaciones positivas del contenido de proteína en harina tanto con GLI/GLU como con HMW/LMW, con incrementos de fracciones S-ricas y S-pobres, al analizar la incidencia de la fertilización nitrogenada en tres cultivares de trigo invernal. A su vez, Godfrey *et al.* (2010) observaron una fuerte correlación positiva entre la relación GLI/GLU y el contenido de N en harina, al evaluar el efecto de la nutrición nitrógeno-azufrada sobre la composición y calidad del grano de trigo en Inglaterra. Por su parte, Wieser *et al.* (2004) encontraron que al aumentar la relación N/S en grano se incrementaron las relaciones GLI/GLU y HMW/LMW, al estudiar el efecto de la fertilización azufrada en trigo cultivado en macetas. Dicho aumento en la proporción de gliadinas estuvo asociado a incrementos en la cantidad de gliadinas S-pobres y disminución de las S-ricas. En cambio, al incrementarse el %S en grano, los autores encontraron tendencias opuestas a las comentadas.

Continuando con el análisis de las correlaciones entre parámetros de calidad y variables de composición, se encontró que los cambios en la fuerza del gluten se

debieron a variaciones en el balance entre gliadinas y gluteninas y no entre HMW y LMW. Sin embargo, dentro de estas últimas se observaron cambios en las proporciones de las distintas subunidades que aportaron a la determinación de la calidad del grano (Tabla 34). Contrariamente, Pechanek *et al.* (1997) encontraron asociaciones positivas del volumen de sedimentación (Zeleny) y otros parámetros de calidad con la relación HMW/LMW y con las proporciones de gliadinas S-ricas y S-pobres y de subunidades tipo-x y tipo-y, mientras que no existió asociación con GLI/GLU, en tres cultivares de trigo cultivados bajo distintos niveles de N. En cambio, Godfrey *et al.* (2010) reportaron correlaciones positivas de la absorción de agua, tiempo de desarrollo y estabilidad de la masa, medidos con Farinógrafo, con la relación GLI/GLU y el contenido de N en harina, en ensayos de trigo con fertilización nitrógeno-azufrada en Inglaterra. Por su parte, Reinbold *et al.* (2008) observaron correlaciones negativas del tiempo de desarrollo de la masa (Farinógrafo) y el área de extensión (Extensógrafo) con las relaciones GLI/GLU y HMW/LMW, al estudiar el efecto de la deficiencia de S en trigo primaveral cultivado en macetas.

Con respecto a los determinantes de la fuerza panadera (W) y su correlación con la composición del gluten, se encontraron resultados contrarios a lo reportado por Godfrey *et al.* (2010), quienes encontraron una asociación positiva de la relación GLI/GLU con la extensibilidad (Extensógrafo) y una relación negativa con la resistencia a la extensión (Extensógrafo) (Tabla 34). Esto coincide con lo generalmente aceptado sobre la contribución particular de las gliadinas a la extensibilidad de las masas y de las gluteninas a la tenacidad o elasticidad. Estos autores realizaron ensayos a campo de trigo invernal durante tres campañas con dosis crecientes de N y suficiencia de S, a excepción de dos tratamientos que no recibieron S. Sin embargo, Reinbold *et al.* (2008) encontraron correlaciones negativas de la extensibilidad y la resistencia a la extensión (Extensógrafo) con las relaciones GLI/GLU y HMW/LMW, en ensayos con trigo primaveral en macetas con dosis crecientes de S y suficiencia de N, P, K y Mg. De esta manera, el tipo y magnitud de las asociaciones entre diferentes parámetros de calidad industrial y las variables que definen la composición del gluten pueden diferir entre distintas condiciones nutricionales y ambientes de cultivo.

Se han planteado otros enfoques sobre mecanismos involucrados en el efecto de la deficiencia de S sobre la calidad del trigo. Granvogl *et al.* (2007) reportaron concentraciones extremadamente altas de asparagina libre en harinas provenientes de trigo cultivado con bajo nivel de S. De acuerdo a esto, el calentamiento de las harinas condujo a la generación de cantidades muy altas de acrilamida y su precursor 3-aminopropionamida, que consiste en un potencial carcinógeno presente en alimentos procesados, cuya reducción es un importante reto para la industria alimentaria. Sin embargo, las cantidades de carbohidratos reductores fueron apenas afectadas por la fertilización azufrada. A su vez, las propiedades reológicas de las masas preparadas con dichas harinas y el volumen de pan demostraron sus pobres propiedades tecnológicas en comparación con las harinas provenientes de tratamientos con mayor nivel de S. Por su parte, Reinbold *et al.* (2008) observaron que para trigos en condiciones de deficiencia azufrada, las concentraciones de glutatión total y de cisteína fueron proporcionales a la cantidad de S suministrado durante el crecimiento. El cálculo de las correlaciones reveló que dichas concentraciones influenciaron las propiedades reológicas y de cocción de las masas al menos tanto como los parámetros de proteínas. Por lo tanto, la baja concentración de glutatión total y de cisteína en harinas de trigo con deficiencia de S tuvo un efecto similar sobre las propiedades tecnológicas al de los cambios en la composición del gluten. En estudios fisiológicos, Khan *et al.* (2015) informaron que el S y el selenio influenciaron la formación de etileno y redujeron el estrés oxidativo

inducido por cadmio mediante la producción de glutatión y prolina, protegiendo la capacidad fotosintética en trigo. Esto puede ser explotado como una herramienta fisiológica en el desarrollo de adaptación a este tipo de estrés.

Por otro lado, Li *et al.* (2013) encontraron que la fertilización con N y S afectó significativamente la acumulación de gránulos de almidón tipo-A y tipo-B durante el llenado de granos, siendo más sensibles a la fertilización con S los de tipo-B. A su vez, el nivel de N combinado con la aplicación de S no correlacionó positivamente con las propiedades del almidón, lo que sugiere la existencia de una concentración crítica de N y S donde el nivel de fertilización produce granos de trigo con las mejores propiedades físicas del almidón.

#### 4.5 CONCLUSIONES

En este capítulo se analizó exhaustivamente la composición proteica de los granos y su relación con la calidad industrial.

*Hipótesis: 4) La expresión de las variantes alélicas que codifican subunidades de gliadinas y gluteninas es afectada en forma diferencial por la fertilización nitrógeno-azufrada, explicando las mayores respuestas bajo condiciones de fertilidad moderada y la estabilidad bajo condiciones de fertilidad pobre en términos de composición cuantitativa del gluten y de calidad industrial de aquellos genotipos de alto potencial de calidad.*

Los resultados permiten corroborar parcialmente la hipótesis 4, concluyendo que: i) se detecta variabilidad genética en los patrones o perfiles de gliadinas y gluteninas y la mayoría de los genotipos presenta elevado potencial de calidad según su patrón de gluteninas de alto peso molecular, aunque difirieron en su fenotipo, ii) el balance entre gliadinas y gluteninas depende principalmente del genotipo independientemente del ambiente, aunque su efecto y el de las interacciones con los niveles de nutrientes son de mayor magnitud en el ambiente más fértil y la fertilización azufrada presenta un notable efecto en el ambiente limitante, corrigiendo la deficiencia de S en condiciones de alto nivel de N, iii) la relación entre gluteninas de alto peso molecular y de bajo peso molecular también es influenciada en mayor medida por el genotipo en ambos experimentos, siendo mayor en los ciclos cortos, aunque la fertilización azufrada puede incrementar la proporción de gluteninas de bajo peso molecular (S-ricas) en condiciones de alto nivel de N, iv) las proporciones de las diferentes subunidades que definen la composición de gluteninas de alto peso molecular son afectadas principalmente por el genotipo, mientras que los efectos del ambiente asociados a la disponibilidad de nutrientes y la ubicación del ciclo son complejos y de menor magnitud, modificando en forma diferencial a las subunidades codificadas por los distintos loci *Glu-1*, v) las proporciones de las diferentes subunidades que definen la composición de gluteninas de bajo peso molecular son mayormente influenciadas por el genotipo, al igual que para el resto de las fracciones proteicas, mientras que los efectos de la fertilización con N y S son complejos ya que dependen del genotipo y el ambiente y afectan en forma diferencial a las subunidades codificadas por los distintos loci *Glu-3*, vi) la composición de gliadinas depende del genotipo y el nivel de N principalmente, aunque la fertilización azufrada puede incrementar la fracción S-rica, vii) la composición del gluten es determinada principalmente por el perfil de HMW asociado al genotipo en el ambiente más fértil y por la interacción de dicho perfil con la disponibilidad de N y S en el ambiente con fertilidad limitante, viii) la composición del gluten es definida mayormente por el perfil de LMW asociado al genotipo y la

fertilización nitrogenada en el ambiente más fértil y por la interacción entre dicho perfil y la fertilización, principalmente azufrada, en el ambiente limitante, ix) los perfiles de gliadinas asociados con buena calidad presentan mayores respuestas de la composición del gluten al S en condiciones de alto N en el ambiente de mayor fertilidad, mientras que no difieren en sus respuestas con los perfiles de baja calidad en el ambiente limitante, x) el ambiente genera los cambios de mayor magnitud en la calidad de grano y la composición cuantitativa del gluten, encontrando menor calidad panadera y mayor variabilidad entre genotipos en el ambiente de menor fertilidad, xi) no se registran claros agrupamientos de los genotipos por grupo de calidad o *Glu-1 quality score*, aunque se pueden identificar genotipos estables en composición y calidad del grano, xii) los cambios en la composición cuantitativa del gluten determinan parcialmente los parámetros de calidad del grano, con aportes de diferente significancia de las distintas subunidades proteicas, xiii) los aumentos en los contenidos de proteína y de gluten incrementan la proporción de fracciones S-pobres, y xiv) las variaciones de la fuerza del gluten se deben a cambios en el balance entre gliadinas y gluteninas y no entre gluteninas de alto y bajo peso molecular.

## Capítulo 5

### Discusión general

#### 5.1 ESTRATEGIAS DE MANEJO QUE MODIFICAN EL COMPROMISO ENTRE RENDIMIENTO Y CALIDAD DE TRIGO

La ganancia genética en el rendimiento de trigo, producto de un incremento en el potencial de los nuevos cultivares, asociada a determinadas prácticas de manejo puede impactar negativamente en la calidad de los granos producidos. Los planteos de fertilización actuales pueden conducir a la aplicación de dosis subóptimas de N con el objetivo de reducir costos, los cuáles mejoran el rendimiento en grano y la eficiencia de uso del fertilizante, pero disminuye la concentración de proteína debido a efectos de dilución (Cuniberti, 2016). En cambio, en los casos donde el nivel de fertilización nitrogenada es mayor, se pueden observar efectos negativos en la calidad del grano debido a deficiencias inducidas de S. En cuanto al contexto productivo en Argentina, los balances de S en rotaciones de cultivos han comenzado a mostrarse negativos en los últimos años. La fertilización azufrada comenzó a difundirse hace pocos años, comenzando en el norte de Buenos Aires y sur de Santa Fe. En esta zona se verificaron respuestas al agregado de S en soja, trigo y maíz, en lotes con prolongada historia agrícola, bajos contenidos de MO y manejo bajo siembra directa (Steinbach y Álvarez, 2014). Posteriormente, las deficiencias de S se encontraron en otros ambientes edáficos de diferentes localidades del norte, centro y oeste de Buenos Aires y Entre Ríos.

La respuesta a la fertilización con N y S en términos de rendimiento y eficiencia de uso de ambos nutrientes genera cambios en la estructura del grano y en la concentración de nutrientes que explican parcialmente las variaciones en atributos de calidad industrial (Fig. 8, 18 y 19). En esta tesis, se observó que distintas combinaciones de longitud de ciclo y grupo de calidad asociadas al genotipo generaron variabilidad en dichas respuestas, al igual que el ambiente explorado por el cultivo (Fig. 7 y Tabla 6). Esto aporta información que permitiría diseñar estrategias de manejo de nutrición eficientes enfocadas en la calidad del producto.

En primer lugar, es de vital importancia la caracterización del ambiente objetivo mediante diagnósticos de la fertilidad del suelo y su capacidad de almacenamiento de agua. El ajuste de la fertilización nitrogenada y la elección del genotipo resultan los principales determinantes de la calidad del grano en distintos ambientes. Sin embargo, la fertilización azufrada puede resultar necesaria para optimizar la calidad en un ambiente de fertilidad limitante, cuando se incrementa el nivel de N. Así, el agregado de S genera masas más equilibradas y puede mejorar la fuerza panadera. La deficiencia nutricional se manifiesta con mayor intensidad en los trigos de ciclo largo, probablemente debido a diferencias en las sincronías entre las dinámicas de mineralización (oferta) y absorción por parte del cultivo (demanda) (Fig. 16 y 17). Por lo tanto, las dosis utilizadas pueden ajustarse en función del ciclo aunque eventualmente la demanda de nutrientes, determinada por el rendimiento objetivo, no difiera. En tal respecto, el agregado de dosis elevadas de S ( $25 \text{ kg S ha}^{-1}$ ) en combinación con elevadas temperaturas durante el llenado de granos (especialmente en los ciclos cortos del experimento 2) redujo excesivamente la relación P/L en algunos genotipos (Tabla 18). A su vez, el contenido de proteína en los granos tendió a incrementarse en los cultivares de ciclo corto en los distintos ambientes, lo cuál puede ser tenido en cuenta en planteos de producción de trigo de buena calidad (Fig. 15).



El efecto de la fertilización azufrada sobre el rendimiento en grano resulta nulo o de escasa magnitud en ambientes con fertilidad moderada, mientras que potencia significativamente el efecto del agregado de N en ambientes con deficiencias de N y S (Fig. 7). De esta manera, los planteos de fertilización combinada resultan necesarios en estos últimos, maximizando la producción de grano y, en algunos casos, su calidad. En los ambientes de mayor fertilidad, la fertilización azufrada debe analizarse en función de las dosis de N aplicadas y los genotipos utilizados, siendo mayores las respuestas en términos de calidad que de rendimiento en grano (Fig. 7 y 16, Tablas 6 y 17). Por otro lado, el adecuado balance entre N y S en la fertilización mejora la eficiencia de uso de ambos nutrientes y de otros recursos, aportando a la sustentabilidad del sistema de producción (Fig. 11, 12 y 13).

Es posible diseñar estrategias de manejo que optimicen el compromiso entre rendimiento y calidad en cada ambiente. Así, se podría optar por variedades de elevado potencial de calidad en ambientes limitantes para el rendimiento, con el objetivo de lograr un producto de mayor valor. En este caso, la fertilización combinada permitiría la expresión parcial de dicho potencial, pudiendo también mejorar la producción de grano. A su vez, algunas de estas variedades presentan mayor estabilidad en la calidad del grano, disminuyendo el riesgo en este tipo ambientes. Por otro lado, en los mejores ambientes se podrían utilizar variedades de elevado potencial de rendimiento y calidad intermedia, priorizando el volumen de producción. En estos casos, donde la cantidad de proteína puede ser limitante, resultaría crucial optimizar la composición cuantitativa del gluten mediante la elección del genotipo y el manejo de la fertilización, para lograr buena calidad de proteína y mejorar los parámetros industriales (Fig. 18 y 19). En resumen, el objetivo de las prácticas de manejo debería ser la obtención de materias primas con la mejor calidad posible para cada nivel de productividad, mejorando la eficiencia en el uso de los recursos, el valor de la producción y la fluidez de la comercialización. A modo de ejemplo, en la Fig. 36 se puede apreciar como la elección del genotipo y la fertilización inciden sobre la relación entre el rendimiento y el contenido de gluten y entre la fuerza panadera y el equilibrio de la masa en dos ambientes contrastantes.

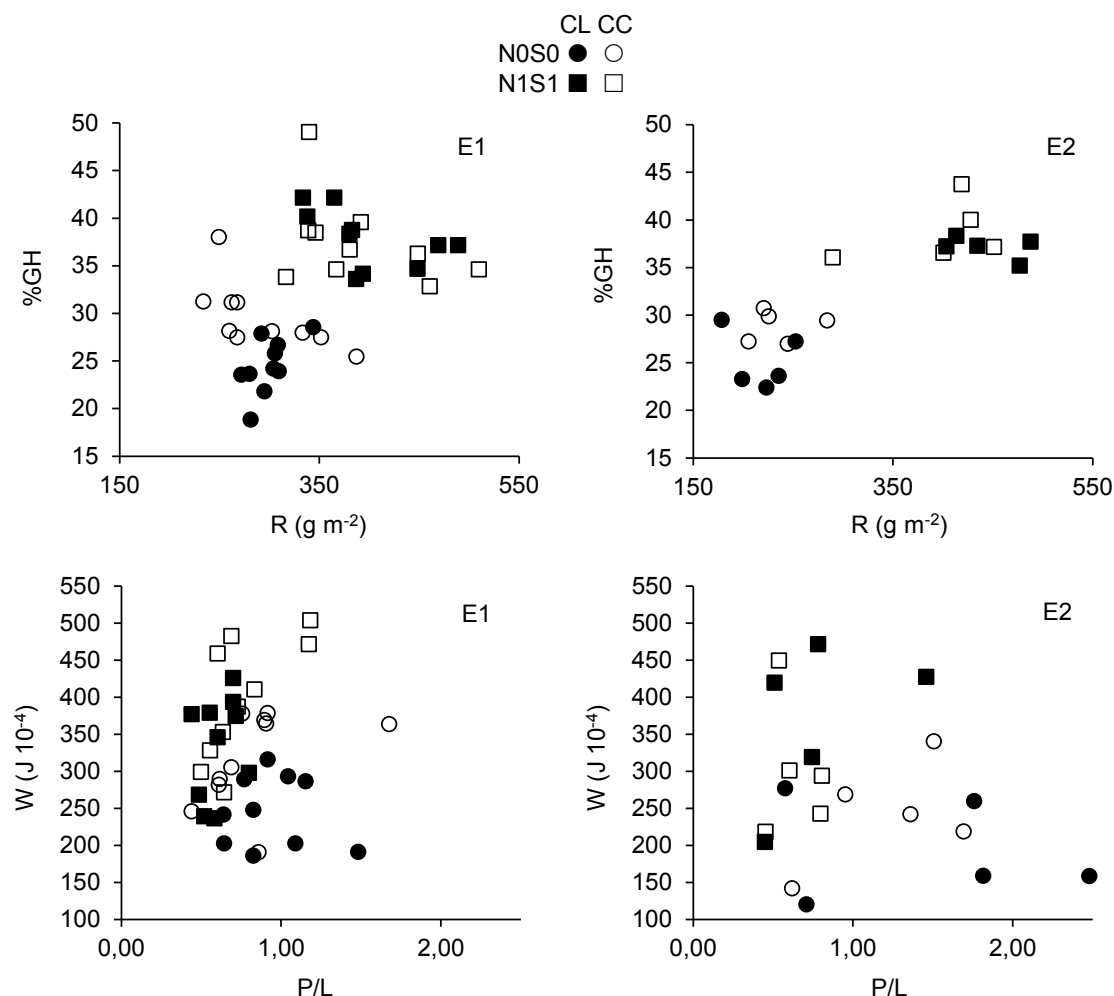


Figura 36: Relaciones entre el contenido de gluten húmedo (%GH) y el rendimiento en grano (R), y entre la fuerza panadera (W) y la relación tenacidad/extensibilidad (P/L) para los tratamientos de fertilización sin N y sin S (N0S0) y con N y con S (N1S1) de los genotipos de ciclo largo (CL) y corto (CC) en los experimentos 1 (E1) y 2 (E2).

## 5.2 MEJORA DEL PATRÓN PROTEICO ASOCIADO AL GENOTIPO Y MANEJO DE LA FERTILIZACIÓN

Resulta de especial importancia comprender los efectos de la fertilización nitrógeno-azufrada sobre la composición cuantitativa de las proteínas que forman gluten y la calidad industrial de trigo pan, relacionando cambios a nivel molecular con parámetros de uso final de las harinas. La asociación entre genotipo y calidad lograda a este nivel de detalle es aún escasa, para genotipos de Argentina y del mundo. Las variantes alélicas para subunidades de gliadinas y gluteninas y el ambiente de cultivo afectan dichas respuestas en términos cuantitativos e incluso cualitativos. Los resultados de esta tesis brindan indicios acerca de cómo utilizar los recursos genéticos existentes para elaborar estrategias que permitan mantener la producción con calidad en ambientes deficientes en S, o seleccionar aquellos que presenten mayor respuesta en ambientes de mayor potencial. De esta manera, se aspira a contribuir a mejorar la eficiencia de uso de los recursos genéticos y ambientales obteniendo materias primas de alto valor, ampliando el conocimiento previo generado para cultivares argentinos de trigo pan (Lerner *et al.*, 2009).

Los cultivares evaluados en esta tesis presentaron variabilidad genética en los patrones de gliadinas y gluteninas. Los loci *Glu-B1*, *Glu-A3* y *Glu-B3* exhibieron el mayor número de variantes alélicas, siendo relevantes para la mejora genética del gluten. Sin embargo, la mayor proporción de los genotipos presentó elevado potencial de calidad según su patrón alélico de gluteninas de alto peso molecular, aunque difirieron en su fenotipo (Tabla 25). Esto demostraría la incidencia de otras fracciones proteicas y su interacción con el ambiente, sugiriendo que el mejoramiento genético podría evaluar la calidad del grano en forma integral y realizar selección ambiente-específica, con el objetivo de incrementar su eficiencia.

La composición cuantitativa del gluten, determinada por las relaciones entre las distintas fracciones proteicas, dependió principalmente del genotipo en los distintos ambientes evaluados (Tablas 29-31). Sin embargo, la fertilización azufrada resultó significativa en el ambiente con fertilidad limitante, corrigiendo la deficiencia de S en condiciones de alto N y generando una composición del gluten similar a la de los tratamientos con bajo nivel de N (Fig. 24 y 26). Así, la fertilización nitrogenada tendió a incrementar la proporción de fracciones proteicas S-pobres, con mayor intensidad en este tipo de ambiente.

Los cambios en la composición cuantitativa del gluten debidos a la interacción entre el patrón proteico y los tratamientos de fertilización difirieron entre ambientes. Así, se observó una mayor importancia relativa del efecto genotípico en el ambiente de mayor fertilidad, y de las interacciones entre el patrón proteico y la disponibilidad de N y S en el ambiente con fertilidad limitante (Fig. 29-34). Por lo tanto, sería posible identificar combinaciones de HMW, LMW y gliadinas que presenten mayor respuesta a la fertilización y otros con mayor estabilidad. Esto permitiría la obtención de genotipos adaptados a distintas situaciones de producción, la caracterización del ambiente de selección para cada caso y el diseño de prácticas de manejo asociadas.

Los genotipos no se agruparon claramente por grupo de calidad o *Glu-1 quality score* al analizar en conjunto las asociaciones entre variables que definen la composición del gluten y la calidad del grano en los experimentos de esta tesis (Fig. 37). Esto indicaría que se requiere una caracterización más precisa de los recursos genéticos, mediante la evaluación en forma complementaria del patrón proteico completo asociado al genotipo y de ciertos atributos que definen el fenotipo. Sin embargo, la implementación de estos análisis en los programas de mejoramiento de trigo locales puede resultar inviable en algunos casos, debido su complejidad y elevado costo. En este contexto, las universidades pueden cumplir un rol fundamental en el mejoramiento de la calidad de trigo, posibilitando la aplicación de estas técnicas mediante la prestación de servicios o como convenios de vinculación tecnológica.

Los parámetros de calidad del grano fueron determinados en forma parcial por la composición cuantitativa del gluten. Las variaciones de la fuerza panadera se debieron principalmente a cambios en el balance entre gliadinas y gluteninas y no entre gluteninas de alto y bajo peso molecular. A su vez, los aportes de las distintas subunidades proteicas a la variación en la composición fueron de diferente magnitud, lo cual brinda información acerca de los loci que podrían aportar mayor respuesta a la selección en el mejoramiento de la calidad de trigo (Tabla 34).

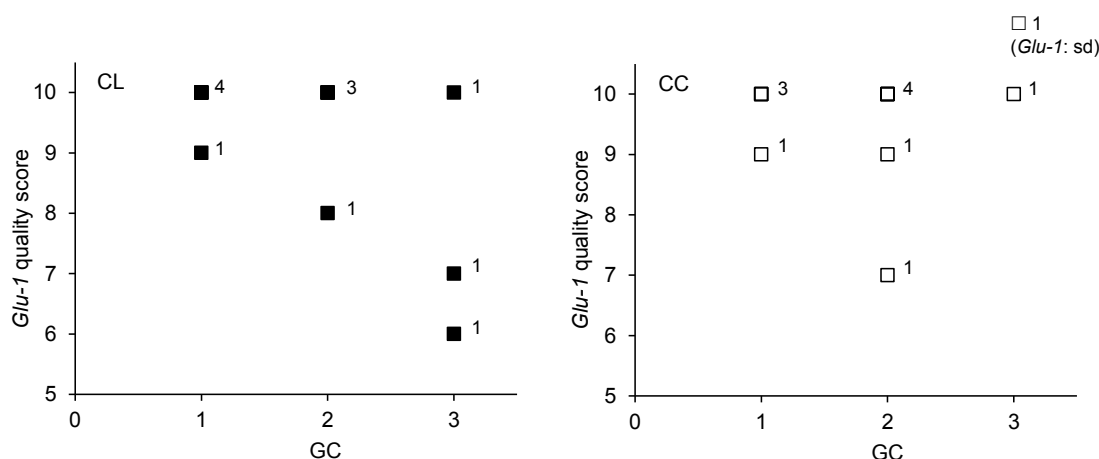


Figura 37: Relación entre el *Glu-1 quality score* (SC) y el grupo de calidad (GC) para los genotipos de ciclo largo (CL: símbolos llenos) y corto (CC: símbolos vacíos) utilizados en ambos experimentos. Se indica junto a cada punto el número de variedades para cada combinación de SC y GC. sd: sin dato de SC para FAS, ver sección 4.3.1.

### 5.3 LA INTERACCIÓN GxA COMO HERRAMIENTA PARA UN MANEJO EFICIENTE ORIENTADO A LA PRODUCTIVIDAD CON CALIDAD

Un mayor conocimiento de la interacción GxA sobre la calidad industrial de trigo es de vital importancia, especialmente para la industria molinera, debido a que los acopios deben respetar sus respectivas zonas tributarias (Res. Ex ONCCA 7/2007). Además, el entendimiento de las respuestas de los diferentes genotipos al ambiente permitiría optimizar la producción de trigo, maximizando la calidad del grano posible de obtener en cada caso. De esta manera, se pueden complementar las distintas estrategias de comercialización de las materias primas. Por un lado, se pueden lograr productos de mayor calidad y alto valor, y por otro, mejorar la fluidez de venta mediante una calidad aceptable.

La disponibilidad de N es uno de los principales factores que determinan la calidad del ambiente en general, mientras que la disponibilidad de S adquiere relevancia en condiciones particulares. En comparación con el rendimiento, los parámetros de calidad del grano presentan mayor grado de interacción entre la fertilización nitrógeno-azufrada y el genotipo (Tablas 5 y 16). En esta tesis se observaron distintos tipos de respuestas, tanto en términos cuantitativos como cualitativos, dificultando una única caracterización general. De esta manera, la elección del genotipo y el diseño de las prácticas de manejo se deberían considerar en función del ambiente, con el objetivo de mejorar la eficiencia productiva.

El control genético de la calidad industrial del trigo resulta complejo debido a la gran cantidad de constituyentes alélicos observados. Al estudiar la interacción entre el genotipo, que representa un patrón proteico completo, y la fertilización nitrógeno-azufrada se encuentran distintas jerarquías entre los factores determinantes de la calidad del grano. Así, el efecto genotípico resulta el principal factor determinante del volumen de sedimentación en los distintos ambientes, mientras que el nivel de N y su interacción con el genotipo adquieren relevancia como factores secundarios en el ambiente de mayor fertilidad, y la disponibilidad de S y su interacción con el N en el ambiente limitante (Tabla 14).

Por su parte, los efectos del genotipo y el nivel de N resultan los principales factores determinantes de la fuerza panadera en los distintos ambientes, mientras que los

factores secundarios se complejizan en los ambientes de fertilidad limitante debido al mayor número de interacciones. El nivel de S resulta significativo en este tipo de ambiente, de modo que la fertilización azufrada genera cambios en distinto sentido sobre la fuerza panadera, que dependen del nivel de N, el ciclo y el genotipo. Sin embargo, los efectos de mayor magnitud del ambiente edáfico y el nivel de S se evidencian en la conformación de la curva del alveograma, es decir en el equilibrio de la masa. Por otro lado, la interacción del genotipo con el nivel de N para varios de los atributos de calidad del grano es de tipo cuantitativa, es decir que modifica la magnitud de las respuestas a la fertilización; mientras que la interacción del genotipo con el nivel de S es de tipo cualitativa, pudiendo modificar el sentido de las respuestas (Tabla 16).

El ambiente asociado a cada experimento también modifica los tipos de asociaciones entre las variables que definen la calidad industrial y la composición cuantitativa del gluten. Así, los mecanismos que determinan la calidad del grano difieren y se puede dificultar su estimación en base a parámetros predictivos o de calidad comercial. A modo de ejemplo, un modelo que integra el contenido de proteína y el volumen de sedimentación como variables predictoras mejora la explicación de la fuerza panadera en el conjunto de datos analizados en esta tesis (Tabla 22). Por lo tanto, se podrían desarrollar modelos más complejos que involucren variables factibles de medir con poca cantidad de muestra y que permitan estimar parámetros de calidad industrial. Esto contribuiría a optimizar el mejoramiento genético de trigo, favoreciendo la selección temprana por calidad en ambientes diversos.

También es posible estudiar la interacción entre combinaciones alélicas para cada fracción proteica y la fertilización nitrógeno-azufrada, tal como se hizo en esta tesis para las variables que definen la composición cuantitativa del gluten. Si bien no se trata de líneas isogénicas y pueden existir interacciones entre distintos loci, esto permite simplificar el análisis de las respuestas y obtener conclusiones para un mayor número de variantes alélicas. De esta manera, se podría contribuir a la selección por calidad de genotipos adaptados a diversos ambientes, en base a patrones proteicos completos. Los agrupamientos observados indican un mayor efecto del genotipo y el nivel de N en el ambiente de fertilidad moderada y de la interacción del genotipo con la fertilización combinada en el ambiente con limitaciones de N y S (Fig. 29-34).

## 5.4 CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

La progresiva aparición de áreas con deficiencias de S determinó que los productores comenzaran a incorporar este nutriente dentro de los programas de fertilización, mejorando progresivamente los balances de S en los agro-ecosistemas. Así, considerando el promedio de los principales cultivos de la Región Pampeana (i.e. soja, trigo, maíz y girasol), la reposición del S exportado por las plantas en los granos creció del 5% en 1998 a cerca del 30% en 2007. Las respuestas medias a la fertilización azufrada en la Región Pampeana, son de 200-500 kg ha<sup>-1</sup> en trigo y soja, y de 400-700 kg ha<sup>-1</sup> de grano en maíz. El diagnóstico de la fertilidad azufrada en suelos pampeanos es un tema que está en desarrollo quedando aún aspectos centrales sin dilucidar (Torres Duggan, 2011). Para el caso particular del trigo, los modelos de diagnóstico y recomendación de fertilización deberían integrar los efectos del S sobre el rendimiento y la calidad del grano, teniendo en cuenta la mayor sensibilidad de los parámetros indicadores de esta última y su importancia en el resultado económico de dicha práctica de manejo. En general el costo de la unidad de S suele ser superior a la de N y P, aunque en la actualidad se dispone de distintos tipos de fertilizantes mezcla que aportan varios

nutrientes en simultáneo, disminuyendo los costos y simplificando la logística de la fertilización azufrada (Tecnoagro, 2015).

En el contexto actual de comercialización de trigo en Argentina, la producción de granos de calidad es una alternativa relevante. Con respecto a la situación de mercado, los volúmenes de exportación de trigo argentino han disminuido y el precio recibido es muy inferior al que reciben otros trigos de similar calidad. Esto se debe a que nuestros competidores en el mercado internacional venden productos diferenciados en función de lo que la demanda necesita, siendo la Argentina el único país que vende trigo como commodity. Frente a esta situación se pueden tomar dos caminos: producir mayor volumen de un commodity o clasificar y segregar trigo para intentar obtener mejores precios. Con respecto al negocio de la exportación de specialities de trigo, Canadá y Estados Unidos lideran el mercado de trigos de calidad. Estos países no solo consiguen sobreprecios por clasificar los granos y comercializar lo que el cliente demanda, sino que además entregan al comprador un soporte técnico con todas las características del producto. Estos sobreprecios se pagan debido a que los procesos de fabricación de los productos panificables se encuentran altamente automatizados; por lo que, si la calidad del trigo no es consistente, el producto final elaborado por la industria no es el buscado (AAPROTRIGO). Por otro lado, el mercado interno también demanda trigos segregados de alta calidad. De esta manera, la obtención de este tipo de mercadería le permite al productor argentino alcanzar mejores precios, incrementar la fluidez de la comercialización y/o diversificar los canales de venta (molinos harineros, industrias panificadoras), mejorando el resultado económico de su explotación.

El concepto de calidad de trigo resulta muy amplio dado que abarca desde la calidad harinera necesaria para la producción de galletitas hasta la adecuada para la producción de pasta. En general, el análisis de la calidad comprende tan solo dos dimensiones (contenido de proteína y dureza). Sin embargo, se deben tener en cuenta otros aspectos, como por ejemplo: calidad de la proteína, color, proporción de amilosa y amilopectina, proporción de gránulos de almidón A y B, lípidos, pentosanos (arabinosilanos) y  $\beta$ -glucanos, entre otros (Larroque, 2010). De esta manera, el estudio de los efectos del genotipo, el ambiente, las prácticas de manejo y sus interacciones como factores determinantes de la calidad debería adoptar un enfoque integrador de las distintas variables. Esto mejoraría el entendimiento más profundo y holístico de los diversos mecanismos involucrados en la definición de la calidad del grano.

En el mercado mundial, los consumidores resultan cada vez más exigentes, demandando productos que deben responder a un concepto integral de calidad. En particular, los productos derivados de la harina de trigo han sufrido un retroceso en cuanto a la aceptación del público, debido en parte a la exitosa difusión de dietas bajas en carbohidratos. Con el objetivo de fortalecer el concepto de calidad, se han desarrollado líneas de investigación en mejoramiento que se centran en lograr cambios que contribuyan a potenciar los efectos benéficos de ciertos componentes o disminuir los efectos deletéreos de otros. Por ejemplo, se encuentran trabajos referidos a la enfermedad celíaca, el estudio del almidón resistente a la digestión y la manipulación de los niveles y calidad de fibras (Larroque, 2010). Otro aspecto que resulta importante es determinar el contenido de micronutrientes en el trigo y los productos alimenticios a base del mismo para definir la contribución de este tipo de alimentos en la nutrición de los consumidores (Nurit *et al.*, 2015).

En un contexto de cambio climático, adquiere relevancia el estudio del impacto de las altas temperaturas sobre la calidad de trigo. Es conocido que el efecto del estrés térmico depende de su duración, intensidad y momento del ciclo del cultivo en que

ocurre, así como también del genotipo y la disponibilidad de nutrientes (Savin, 2010). De esta manera, se deberían conducir investigaciones que evalúen los efectos de estas interacciones sobre la calidad, integrando los distintos enfoques previamente discutidos. Todo esto permitiría el mejoramiento y la elección de genotipos adaptados a distintos escenarios productivos, asociados a prácticas de manejo enfocadas en la productividad con calidad de un modo integral, mejorando la eficiencia del sistema.

## 5.5 CONCLUSIONES GENERALES

El nivel de N resultó el principal factor determinante del rendimiento en ambos experimentos. Sin embargo, los factores secundarios difirieron entre los mismos, siendo relevantes el genotipo y sus interacciones en el ambiente con moderada fertilidad del suelo, y la disponibilidad de S y su interacción con el N en el ambiente con fertilidad limitante. Las respuestas en rendimiento fueron explicadas en su mayor proporción por cambios en el número de granos en todos los ambientes. La fertilización azufrada incrementó el rendimiento y la biomasa aérea total cuando el nivel de N fue elevado en el ambiente con limitaciones de fertilidad, mejorando la eficiencia de uso de este último. La recuperación aparente del N correlacionó principalmente con el incremento del rendimiento asociado al número de granos, mientras que la recuperación de S estuvo fuertemente correlacionada con el aumento en la concentración del nutriente en el grano. La eficiencia de uso de nutrientes mostró interacción genotipo x ambiente.

La disponibilidad de N resultó la principal fuente de variación para la relación N/S en grano, el contenido de proteína y el contenido de gluten en ambos experimentos, mientras que el genotipo adquirió mayor importancia en la determinación del volumen de sedimentación y la fuerza panadera. Los factores secundarios que definieron los distintos parámetros de calidad del grano difirieron entre ambientes. Así, la fertilización azufrada presentó efectos de mayor magnitud en condiciones de alta disponibilidad de N en el ambiente con fertilidad limitante. A su vez, el genotipo modificó las respuestas a la fertilización, observándose interacciones de tipo cuantitativas para el caso del N y de tipo cualitativas para el caso del S. Sin embargo, estos efectos de interacción difirieron entre ambientes.

El ambiente asociado a cada experimento modificó las asociaciones entre las variables que definen la calidad industrial. Los incrementos de rendimiento ligados a efectos genotípicos y ambientales presentaron una asociación negativa con el contenido de proteína en los granos, pero resultaron independientes o asociados positivamente con parámetros de fuerza del gluten. Esto resultaría alentador para modificar el compromiso entre rendimiento y calidad industrial a través del mejoramiento de la calidad de proteína. Se observaron diferencias en las respuestas al ambiente edáfico dentro de cada grupo de calidad, detectando genotipos con calidad estable.

Se encontró variabilidad genética en los patrones de gliadinas y gluteninas entre los cultivares analizados, detectando algunos loci con mayor número de variantes alélicas. El genotipo resultó el principal factor determinante de las relaciones entre fracciones proteicas que definen la composición cuantitativa del gluten, a la vez que modificó las respuestas a la fertilización. La fertilización azufrada afectó dichas relaciones en el ambiente con limitaciones de fertilidad, corrigiendo el efecto de la deficiencia de S en condiciones de alta disponibilidad de N a través de un incremento en la proporción de proteínas S-ricas.

Las proporciones de las diferentes subunidades codificadas por los loci *Glu-1* y *Glu-3* fueron afectadas en forma diferencial por la fertilización y su interacción con el

genotipo y el ambiente asociado a cada experimento. Se observaron cambios en distinto sentido y diferencias en su sensibilidad, determinando variaciones en la composición de cada fracción proteica. La composición de gliadinas también fue influenciada por el genotipo, la fertilización y sus interacciones.

Los cambios en la composición cuantitativa del gluten debidos a las interacciones entre los perfiles proteicos de gluteninas de alto peso molecular, de bajo peso molecular y gliadinas asociados al genotipo y los tratamientos de fertilización difirieron entre ambientes, observando diferencias en la importancia relativa de los distintos factores.

El ambiente asociado a cada experimento determinó los cambios de mayor magnitud en la calidad del grano y la composición cuantitativa del gluten al analizar las variaciones en conjunto. Los cambios en la composición determinaron parcialmente los parámetros de calidad, con aportes de diferente significancia de las distintas subunidades proteicas. La fuerza del gluten se asoció principalmente al balance entre gliadinas y gluteninas y no entre gluteninas de alto y bajo peso molecular.



## Bibliografía

- AACC International. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. AACC International, St. Paul, MN, U.S.A. ISBN 978-1-891127-68-2.  
<http://methods.aaccnet.org/default.aspx> (17/3/16)
- AAPROTRIGO. Trigo de Calidad Superior.  
<http://www.aaprotrigo.org/desarrollo.php?cat=46> (16/3/14)
- Abbate, P. E., Andrade, F. H., & Culot, J. P. (1995). The effects of radiation and nitrogen on number of grains in wheat. *The Journal of Agricultural Science*, 124(03), 351-360.
- AgriCheck, Bruins Instruments. <http://www.atimesa.com.ar/brochures/Agricheck.pdf> (17/3/16)
- Altenbach, S. B., DuPont, F. M., Kothari, K. M., Chan, R., Johnson, E. L., & Lieu, D. (2003). Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in a US spring wheat. *Journal of Cereal Science*, 37, 9-20.
- Alvarado, J. D. D., & Aguilera, J. M. (2001). Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. *España, Ed. AMV*.
- Álvarez, R. (2006) Balance de nitrógeno en cultivos de trigo. *INTA Rafaela. Información técnica de Trigo. Publicación miscelánea* 105. 23-35.
- Amiour, N., Jahier, J., Tanguy, A. M., Chiron, H., & Branlard, G. (2002). Effect of 1R (1A), 1R (1B) and 1R (1D) substitution on technological value of bread wheat. *Journal of Cereal Science*, 35, 149-160.
- Autran, J. C., Laignelet, B., & Morel, M. H. (1987). Characterization and quantification of low molecular weight glutenins in durum wheats. *Biochimie*, 69, 699-711.
- Avni, R., Zhao, R., Pearce, S., Jun, Y., Uauy, C., Tabbita, F., Fahima, T., Slade, A., Dubcovsky, J., & Distelfeld, A. (2014). Functional characterization of GPC-1 genes in hexaploid wheat. *Planta*, 239(2), 313-324.
- Axford, D. W. E., McDermott, E. E., & Redman, D. G. (1979). Note on the sodium dodecyl sulfate test of breadmaking quality: comparison with Pelshenke and Zeleny tests. *Cereal Chemistry* (USA).
- Balint, T., Rengel, Z., & Allen, D. (2008). Australian canola germplasm differs in nitrogen and sulfur efficiency. *Crop and Pasture Science*, 59(2), 167-174.
- Balint, T., & Rengel, Z. (2009). Differential sulfur efficiency in canola genotypes at vegetative and grain maturity stage. *Crop and Pasture Science*, 60(3), 262-270.
- Balint, T., & Rengel, Z. (2011). Nitrogen and sulfur uptake and remobilisation in canola genotypes with varied N-and S-use efficiency differ at vegetative and maturity stages. *Crop and Pasture Science*, 62(4), 299-312.
- Barraco, M., Díaz-Zorita, M., Brambilla, C., Álvarez, C., & Scianca, C. (2009). Respuesta del trigo a la fertilización nitrogenada y nitroazufrada en suelos arenosos. *Ciencia del suelo*, 27(2), 217-224.
- Boletín Agrometeorológico, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires. 2005, 2012, 2014.
- Branlard, G., & Dardevet, M. (1985a). Diversity of grain proteins and bread wheat quality: I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science*, 3, 329-343.
- Branlard, G., & Dardevet, M. (1985b). Diversity of grain protein and bread wheat quality: II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science*, 3, 345-354.

- Branlard, G., Dardevet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F., & Gourdon, J. (2001). Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica*, 119, 59-67.
- Branlard, G., Dardevet, M., Amiour, N., & Igrejas, G. (2003). Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50(7), 669-679.
- Brunori, A., Galterio, G., Zannettino, C., & Pogna, N. E. (1989). Bread-Making Quality Indices in *Triticum aestivum* Progenies. Implications in Breeding for Better Bread Wheat. *Plant Breeding*, 102, 222-231.
- Bunce, N. A. C., White, R. P., & Shewry, P. R. (1985). Variation in estimates of molecular weights of cereal prolamins by SDS-PAGE. *Journal of Cereal Science*, 3, 131-142.
- Carrillo, J. M., Vazquez, J. F., & Orkellana, J. (1990). Relationship between gluten strength and glutenin proteins in durum wheat cultivars. *Plant Breeding*, 104(4), 325-333.
- Castro, M., Peterson, C. J., Dalla Rizza, M., Dellavalle, P. D., Vázquez, D., Ibanez, V., & Ross, A. (2007). Influence of heat stress on wheat grain characteristics and protein molecular weight distribution. In *Wheat Production in Stressed Environments*. Springer Netherlands. 365-371.
- Chatzav, M., Peleg, Z., Ozturk, L., Yazici, A., Fahima, T., Cakmak, I., & Saranga, Y. (2010). Genetic diversity for grain nutrients in wild emmer wheat: potential for wheat improvement. *Annals of Botany*, 105(7), 1211-1220.
- Cuniberti, M. (2005). Clasificación del trigo como valor agregado. *1ª Jornada de Trigo de la Región Centro*. Córdoba. 45-50.
- Cuniberti, M. (2016). Problemática actual de la calidad del trigo argentino. Disertación en la Jornadas Trigueras de la 60° Fiesta Nacional del Trigo, Leones, Cba. 12 y 13 de febrero de 2016.  
[http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_trigo\\_problematika\\_calidad16.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_trigo_problematika_calidad16.pdf)  
(30/05/2016)
- Darwich, N. A. (2005). Los nutrientes secundarios: azufre, calcio y magnesio. Capítulo VII. En: *Manual de fertilidad de suelos y uso de fertilizantes*. Talleres de Gráfica Armendenho, segunda edición. 289 pp.
- De la Vega Ruíz, G. (2009). Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 13, 27-32.
- De Wit, C. T. (1992). Resource use efficiency in agriculture. *Agricultural systems*, 40(1), 125-151.
- Dewey, D. R. (1985). *The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae*. Springer, US. 209-279.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. InfoStat versión (2014). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dick, J. W., & Quick, J. S. (1983). A modified screening test for rapid estimation of gluten strength in early-generation durum wheat breeding lines. *Cereal Chemistry*, 60.
- Dreccer, M., Ruiz, R., Maddonni, G., & Satorre, E. (2003). Bases ecofisiológicas de la nutrición en los cultivos de grano. En *Producción de cultivos de granos. Bases funcionales para su manejo*. Editorial Facultad de Agronomía. Buenos Aires, Argentina. 481-497.

- Don, C., Lookhart, G., Naeem, H., MacRitchie, F., & Hamer, R. J. (2005). Heat stress and genotype affect the glutenin particles of the glutenin macropolymer-gel fraction. *Journal of Cereal Science*, 42, 69-80.
- Dunk, R., Mostyn, R. A., & Hoare, H. C. (1969). The determination of sulfate by indirect atomic absorption spectroscopy. *Atomic Absorption Newsletter*, 8(4), 79-81.
- Dupont, F. M., & Altenbach, S. B. (2003). Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science*, 38, 133-146.
- DuPont, F.M., Hurkman, W.J., Vensel, W.H., Chan, R., Lopez, R., Tanaka, C.K., & Altenbach, S.B. (2006a). Differential accumulation of sulfur-rich and sulfur-poor wheat flour proteins is affected by temperature and mineral nutrition during grain development. *Journal of Cereal Science*, 44, 101-112.
- Dupont, F.M., Hurkman, W. J., Vensel, W.H., Tanaka, C., Kothari, K.M., Chung, O.K., & Altenbach S.B. (2006b). Protein accumulation and composition in wheat grains: effects of mineral nutrients and high temperature. *European Journal of Agronomy*, 25, 96-107.
- Ercoli, L, Lulli, L., Arduini, I., Mariotti, M., & Masoni, A. (2011). Durum wheat grain yield and quality as affected by S rate under Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy*, 35, 63-70.
- Feldman, M. (1976). Wheats. In: *Evolution of Crop Plants*. Simmonds, N. W. Longman Group Ltd.
- Ferraris, G.N. (2013). Manejo de agua y nutrientes en la producción de trigo y cebada. *A Todo Trigo y Cultivos de Invierno*, Mar del Plata, Argentina.
- Figueroa, J. D. C., Peña, R. J., Maucher, T., Rayas-Duarte, P., & Khan, K. (2011). Kernel elastic properties and sedimentation: influence of high and low molecular weight glutenin allelic composition. *Cereal Chemistry*, 88(1), 41-44.
- Fischer, R. A. (1993). Irrigated spring wheat and timing and amount of nitrogen fertilizer. II. Physiology of grain yield response. *Field Crops Research*, 33(1), 57-80.
- Flaete, N. E. S., Hollung, K., Ruud, L., Sogn, T., Færgestad, E. M., Skarpeid, H. J., & Uhlen, A. K. (2005). Combined nitrogen and sulphur fertilisation and its effect on wheat quality and protein composition measured by SE-FPLC and proteomics. *Journal of Cereal Science*, 41, 357-369.
- Fontanetto, H., Keller, O., Albrecht, J., & Belotti, L. (2003). Efecto de fuentes nitrogenadas y su combinación con azufre sobre los rendimientos y la calidad panadera del trigo. *INTA, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Información Técnica de Trigo*. 1-9.
- Fraschina, J., Masiero, B., & Cuniberti, M. (2007). Interacción Genotipo-Ambiente para caracteres de calidad en trigo. *2º Jornada de Trigo de la Región Centro*. 4 pp.
- Gaido, Z. A., & Dubois, M. E. (2008). Influencia del estrés térmico en la calidad panadera del trigo: progenies con diferentes niveles de sensibilidad. *Agriscientia*, 25, 89-96.
- Gianibelli, M. C., Echaide, M., Larroque, O. R., Carrillo, J. M., & Dubcovsky, J. (2002). Biochemical and molecular characterisation of Glu-1 loci in Argentinean wheat cultivars. *Euphytica*, 128(1), 61-73.
- Gil-Humanes, J., Pistón, F., Rosell, C. M., & Barro, F. (2012). Significant down-regulation of  $\gamma$ -gliadins has minor effect on gluten and starch properties of bread wheat. *Journal of Cereal Science*, 56, 161-170.

- Girondé, A., Dubousset, L., Trouverie, J., Etienne, P., & Avice, J. C. (2014). The impact of sulfate restriction on seed yield and quality of winter oilseed rape depends on the ability to remobilize sulfate from vegetative tissues to reproductive organs. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-13.
- Glutomatic, Perten. <http://www.perten.com/es/Productos/Glutomatic/> (17/3/2016)
- Godfrey, D., Hawkesford, M. J., Powers, S. J., Millar, S., & Shewry, P. R. (2010). Effects of crop nutrition on wheat grain composition and end use quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3012-3021.
- Gómez, D. T. (2011). Interacción genotipo por ambiente sobre caracteres de calidad comercial e industrial en trigo pan (*Triticum aestivum* L.) *Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Producción Vegetal*. 105 pp.
- Gómez, D., Vanzetti, L., Helguera, M., Lombardo, L., Frascina, J., & Miralles, D. J. (2014). Effect of *Vrn-1*, *Ppd-1* genes and earliness *per se* on heading time in Argentinean bread wheat cultivars. *Field Crops Research*, 158, 73-81.
- González, F. G., Terrile, I. I., & Falcón, M. O. (2011). Spike fertility and duration of stem elongation as promising traits to improve potential grain number (and yield): variation in modern Argentinean wheats. *Crop Science*, 51, 1693-1702.
- González, F. G., Aldabe, M. L., Terrile, I. I., & Rondanini, D. P. (2014). Grain Weight Response to Different Postflowering Source: Sink Ratios in Modern High-Yielding Argentinean Wheats Differing in Spike Fruiting Efficiency. *Crop Science*, 54, 297-309.
- Granvogl, M., Wieser, H., Koehler, P., Von Tucher, S., & Schieberle, P. (2007). Influence of sulfur fertilization on the amounts of free amino acids in wheat. Correlation with baking properties as well as with 3-aminopropionamide and acrylamide generation during baking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4271-4277.
- Gras, P. W., Anderssen, R. S., Keentok, M., Bekes, F., & Appels, R. (2001). Gluten protein functionality in wheat flour processing: a review. *Crop and Pasture Science*, 52, 1311-1323.
- Guarda, G., Padovan, S., & Delogu, G. (2004). Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy*, 21, 181-192.
- Gupta, R. B., Singh, N. K., & Shepherd, K. W. (1989). The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 77, 57-64.
- Gupta, R. B., & Shepherd, K. W. (1990). Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. *Theoretical and Applied Genetics*, 80, 65-74.
- Gupta, R. B., & MacRitchie, F. (1991). A rapid one-step one-dimensional SDS-PAGE procedure for analysis of subunit composition of glutenin in wheat. *Journal of Cereal Science*, 14, 105-109.
- Hall, A. J., Savin, R., & Slafer, G. A. (2014). Is time to flowering in wheat and barley influenced by nitrogen?: A critical appraisal of recent published reports. *European Journal of Agronomy*, 54, 40-46.
- Herrera, L. E., Pinilla, H., & Sanhueza, H. (2012). Effects of sulfur fertilization on wheat production and industrial quality (*Triticum aestivum*). *Ciencia e Investigación Agraria*, 39, 193-199.

- Hristov, N., Mladenov, N., Djuric, V., Kondic-Spika, A., Marjanovic-Jeromela, A., & Simic, D. (2010). Genotype by environment interactions in wheat quality breeding programs in southeast Europe. *Euphytica*, 174, 315-324.
- Ikeda, T. M., Branlard, G., Peña, R. J., Takata, K., Liu, L., He, Z., Lerner, S. E., Kolman, M. A., Yoshida, H., & Rogers, W. J. (2008). International collaboration for unifying Glu-3 nomenclature system in common wheats. In *The 11th International Wheat Genetics Symposium proceedings*, Appels, R., Eastwood, R., Lagudah, E., Langridge, P., & Mackay Lynne, M. (eds), Sydney University Press. 130-132
- INASE. (2016). Comisión Nacional de Semillas. Red de ensayos comparativos de variedades de trigo. <http://www.inase.gov.ar/> (17/3/16)
- Jackson, E. A., Holt, L. M., & Payne, P. I. (1983). Characterisation of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localisation of their controlling genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 66, 29-37.
- Jackson, E. A., Holt, L. M., & Payne, P. I. (1985). Glu-B2, a storage protein locus controlling the D group of LMW glutenin subunits in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Genetics Research*, 46, 11-17.
- Jenner, C. F. (1994). Starch synthesis in the kernel of wheat under high temperature conditions. *Functional Plant Biology*, 21(6), 791-806.
- Jiang, Q. T., Zhao, Q. Z., Wang, X. Y., Wang, C. S., Zhao, S., Cao, X., ... & Wei, Y. M. (2013). Characterization of x-type high-molecular-weight glutenin promoters (x-HGP) from different genomes in Triticeae. *SpringerPlus*, 2(1), 1-9.
- Johansson, E., Prieto-Linde, M.L., & Svensson, G. (2004). Influence of nitrogen application rate and timing on grain protein composition and gluten strength in Swedish wheat cultivars. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167, 345-350.
- Khan, M. I. R., Nazir, F., Asgher, M., Per, T. S., & Khan, N. A. (2015). Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. *Journal of Plant Physiology*, 173, 9-18.
- Kharel, T.P., Clay, D.E., Clay, S.A., Beck, D., Reese, C., Carlson, G., & Park, H. (2011). Nitrogen and water stress affect winter wheat yield and dough quality. *Agronomy Journal*, 103, 1389-1396.
- Khelifi, D., & Branlard, G. (1992). The effects of HMW and LMW subunits of glutenin and of gliadins on the technological quality of progeny from four crosses between poor breadmaking quality and strong wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 16, 195-209.
- Kumar, R., Singh, V., Sharma, R., Kumar, A., & Singh, G. (2012). Impact of Nitrogen, Phosphorus, Potash and Sulphur on Productivity of Rice-Wheat System in Sub-humid Region. *Journal of Agricultural Physics*, 12, 84-88.
- Labuschagne, M. T., Moloi, J., & van Biljon, A. (2016). Abiotic stress induced changes in protein quality and quantity of two bread wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 69, 259-263.
- Larroque, O. R. (2010). Aspectos de calidad en trigo. En *Avances en ecofisiología de cultivos de granos*, Editorial FAUBA. Buenos Aires, Argentina. 183-199.
- Le Gouis, J., Béghin, D., Heumez, E., & Pluchard, P. (2000). Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilisation efficiencies in winter wheat. *European Journal of Agronomy*, 12(3), 163-173.

- León, A. E., & Rosell, C.M. (2007). *De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Baez impresiones, primera edición, Argentina. 473 pp.
- Lerner, S.E., & Ponzio, N. (2004). El test de sedimentación como método para valorar calidad intrínseca en trigo. *VI Congreso Nacional de Trigo y IV Simposio Nacional de Cereales de siembra otoño-invernal*, Bahía Blanca, Argentina.
- Lerner, S.E., Seghezzo, M.L., Molfese, E.R., Ponzio, N.R., Cogliatti, M., & Rogers, W.J. (2006). N and S fertiliser effects on grain composition, industrial quality and end-use in durum wheat. *Journal of Cereal Science*, 44, 2-11.
- Lerner, S.E., Kolman, M., & Rogers, W.J. (2009). Quality and endosperm storage protein variation in Argentinean grown bread wheat. I. Allelic diversity and discrimination between cultivars. *Journal of Cereal Science*, 49, 337-345.
- Lerner, S.E., Arrigoni, A.C., & Arata, A.F. (2013). Uso del nitrógeno y calidad industrial en cultivares argentinos de trigo pan (*Triticum aestivum* L.). *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 39, 77-87.
- Li, W., Shan, Y., Xiao, X., Zheng, J., Luo, Q., Ouyang, S., & Zhang, G. (2013). Effect of nitrogen and sulfur fertilization on accumulation characteristics and physicochemical properties of A-and B-wheat starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(10), 2418-2425.
- Liu, C. Y., & Shepherd, K. W. (1995). Inheritance of B subunits of glutenin and  $\omega$ - and  $\gamma$ -gliadins in tetraploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 90, 1149-1157.
- Liu, Z., Yan, Z., Wan, Y., Liu, K., Zheng, Y., & Wang, D. (2003). Analysis of HMW glutenin subunits and their coding sequences in two diploid *Aegilops* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 1368-1378.
- Liu, L., Ikeda, T. M., Branlard, G., Peña, R. J., Rogers, W. J., Lerner, S. E., Kolman, M. A., Xia, X., Wang, L., Ma, W., Appels, R., Yoshida, H., Wang, A., Yan, Y., & He, Z. (2010). Comparison of low molecular weight glutenin subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat. *BMC Plant Biology*, 10, 124.
- López-Bellido, R. J., & López-Bellido, L. (2001). Efficiency of nitrogen in wheat under Mediterranean conditions: effect of tillage, crop rotation and N fertilization. *Field Crops Research*, 71, 31-46.
- Luo, C., Branlard, G., Griffin, W. B., & McNeil, D. L. (2000). The effect of nitrogen and sulphur fertilisation and their interaction with genotype on wheat glutenins and quality parameters. *Journal of Cereal Science*, 31, 185-194.
- Ma W., Anderson O., Kuchel H., Bonnardeaux, Y., Collins, H., Morell, M.K., Langridge, P., & Appels, R. (2009). Genomics of quality traits. In *Genetics and Genomics of the Triticeae*. Feuillet, C, & Muehlbauer, G. J. (eds), Springer US, 611-652.
- MacRitchie, F. (1984). Baking quality of wheat flours. *Advances in Food Research*, 29, 201-277.
- Malhi, S. S., Gan, Y., & Raney, J. P. (2007). Yield, seed quality, and sulfur uptake of oilseed crops in response to sulfur fertilization. *Agronomy Journal*, 99(2), 570-577.
- Marchylo, B. A., Lukow, O. M., & Kruger, J. E. (1992). Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats. *Journal of Cereal Science*, 15, 29-37.

- Martin, P., & Carrillo, J. M. (1999). Cumulative and interaction effects of prolamin allelic variation and of 1BL/1RS translocation on flour quality in bread wheat. *Euphytica*, 108, 29-39.
- Masci, S. M., Porceddu, E., Colaprico, G., & Lafiandra, D. (1991). Comparison of the B and D subunits of glutenin encoded at the Glu-D3 locus in two biotypes of the common wheat cultivar Newton with different technological characteristics. *Journal of Cereal Science*, 14(1), 35-46.
- McGrath, S. P., Zhao, F. J., & Blake-Kalff, M. M. (2003). History and outlook for sulphur fertilizers in Europe. *Fertilizers Fertilization*, 2, 5-27.
- McIntosh, R. A., Yamazaki, Y., Devos, K. M., Dubcovsky, J., Rogers, W. J., & Appels, R. (2003). Catalogue of gene symbols for wheat. *Wheat Information Service*, 97, 27-37.
- Meng, X. G., Xie, F., Shang, X. W., & An, L. Z. (2007). Association between allelic variations at the Glu-3 loci and wheat quality traits with Lanzhou Alkaline Stretched Noodles quality in northwest China spring wheats. *Cereal Research Communications*, 35(1), 109-118.
- Metakovsky E.V., Wrigley C.W., Bekes F. y Gupta R.B. (1990). Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. *Australian Journal of Agricultural Research*, 41, 289-306.
- Metakovsky, E. V., Felix, I., & Branlard, G. (1997). Association between dough quality (W value) and certain gliadin alleles in French common wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 26, 371-373.
- Mikhaylenko, G. G., Czuchajowska, Z., Baik, B. K., & Kidwell, K. K. (2000). Environmental influences on flour composition, dough rheology, and baking quality of spring wheat. *Cereal Chemistry*, 77(4), 507-511.
- Moss, H.J., Wrigley, C.W., MacRitchie, F., & Randall, P.J. (1981). Sulfur and Nitrogen Fertilizer Effects on Wheat. II. Influence on Grain Quality. *Australian Journal of Agricultural Research*, 32, 213-226.
- Moss, H.J., Randall, P.J., & Wrigley, C.W. (1983). Alteration to grain flour and dough quality in wheat with variation in soil sulfur supply. *Journal of Cereal Science*, 1, 255-264.
- Müller, S., Vensel, W.H., Kasarda, D.D., Köhler, P., & Wieser, H. (1998). Disulphide bonds of adjacent Cysteine residues in low molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 27, 109-116.
- Naeem, H. A., & MacRitchie, F. (2003). Effect of sulphur nutrition on agronomic and quality attributes of wheat. In *Sulphur in Plants*. Springer Netherlands. 305-322.
- Naeem, H.A., Paulon D., Irmak S., & MacRitchie, F. (2012). Developmental and environmental effects on the assembly of glutenin polymers and the impact on grain quality of wheat. *Journal of Cereal Science*, 56, 51-57.
- Nieto-Taladriz, M. T., Perretant, M. R., & Rousset, M. (1994). Effect of gliadins and HMW and LMW subunits of glutenin on dough properties in the F6 recombinant inbred lines from a bread wheat cross. *Theoretical and Applied Genetics*, 88, 81-88.
- Nurit, E., Lyan, B., Piquet, A., Branlard, G., & Pujos-Guillot, E. (2015). Development of a LC-MS/MS method for the simultaneous screening of seven water-soluble vitamins in processing semi-coarse wheat flour products. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(12), 3471-3479.
- Orman, S., & Ok, H. (2012). Effects of sulphur and zinc applications on growth and nutrition of bread wheat in calcareous clay loam soil. *African Journal of Biotechnology*, 11(13), 3089-3086.

- Oury, F. X., Chiron, H., Faye, A., Gardet, O., Giraud, A., Heumez, E., Rolland, B., Rousset, M., Trottet, M., Charmet, G., & Branlard, G. (2010). The prediction of bread wheat quality: joint use of the phenotypic information brought by technological tests and the genetic information brought by HMW and LMW glutenin subunits. *Euphytica*, 171(1), 87-109.
- Pang, J., Milroy, S. P., Rebetzke, G. J., & Palta, J. A. (2015). The influence of shoot and root size on nitrogen uptake in wheat is affected by nitrate affinity in the roots during early growth. *Functional Plant Biology*, 42(12), 1179-1189.
- Payne, P. I., Harris, P. A., Law, C. N., Holt, L. M., & Blackman, J. A. (1980). The high-molecular-weight subunits of glutenin: structure, genetics and relationship to bread-making quality. In *Annales de Technologie Agricole*, 29, 309-320.
- Payne, P. I., Corfield, K. G., Holt, L. M., & Blackman, J. A. (1981). Correlations between the inheritance of certain high-molecular weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32, 51-60.
- Payne, P. I., & Lawrence, G. J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*, 11, 29-35.
- Payne, P. I. (1987). Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology*, 38, 141-153.
- Payne, P. I., Nightingale, M. A., Krattiger, A. F., & Holt, L. M. (1987). The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40, 51-65.
- Pechanek, U., Karger, A., Gröger, S., Charvat, B., Schöggel, G., & Lelley, T. (1997). Effect of nitrogen fertilization on quantity of flour protein components, dough properties, and breadmaking quality of wheat. *Cereal Chemistry*, 74, 800-805.
- Peña, R. J., Trethowan, R., Pfeiffer, W. H., & Ginkel, M. V. (2002). Quality (end-use) improvement in wheat: compositional, genetic, and environmental factors. *Journal of Crop Production*, 5, 1-37.
- Pompa, M., Giuliani, M. M., Giuzio, L., Gagliardi, A., Di Fonzo, N., & Flagella, Z. (2009). Effect of sulphur fertilization on grain quality and protein composition of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Italian Journal of Agronomy*, 4, 159-170.
- Prystupa, P., Ferraris, G., Bergh, R., Loewy, T., Ventimiglia, L., & Boem, F. G. (2008). Fertilización de Cebada Cervejera cv. Scarlett: IV. Modelo de respuesta del contenido proteico a la Fertilización Nitrogenada. En *XXI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. San Luis.
- Ram, S., & Singh, R. P. (2004). Solvent retention capacities of Indian wheats and their relationship with cookie-making quality. *Cereal chemistry*, 81, 128-133.
- Randall, P. J., Spencer, K., & Freney, J. R. (1981). Sulfur and nitrogen fertilizer effects on wheat. I. Concentrations of sulfur and nitrogen and the nitrogen to sulfur ratio in grain, in relation to the yield response. *Crop and Pasture Science*, 32(2), 203-212.
- Randall, P. J., Freney, J. R., Smith, C. J., Moss, H. J., Wrigley, C. W., & Galbally, I. E. (1990). Effect of additions of nitrogen and sulphur to irrigated wheat at heading on grain yield, composition and baking quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 30, 95-101.
- Reinbold, J., Rychlik, M., Asam, S., Wieser, H., & Koehler, P. (2008). Concentrations of total glutathione and cysteine in wheat flour as affected by sulfur deficiency



- and correlation to quality parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 6844-6850.
- Rengel, Z., & Graham, R. D. (1995). Wheat genotypes differ in Zn efficiency when grown in chelate-buffered nutrient solution. *Plant and Soil*, 176(2), 307-316.
- Reussi Calvo, N. I., Echeverría, H. E., & Sainz Rozas, H. (2006). Respuesta del cultivo de trigo al agregado de azufre en el sudeste bonaerense. *Ciencia del suelo*, 24, 77-87.
- Rogers, W. J., Cogliatti, M., Lerner, S. E., Ponzio, N. R., Robutti, J. L., Di Martino, A. M., Borrás, F. S., Seghezzo, M. L., & Molfese, E. R. (2006). Effects of Nitrogen and Sulfur Fertilizers on Gliadin Composition of Several Cultivars of Durum Wheat 1. *Cereal Chemistry*, 83(6), 677-683.
- Saint Pierre, C., Peterson, C. J., Ross, A. S., Ohm, J. B., Verhoeven, M. C., Larson, M., & Hofer, B. (2008a). White wheat grain quality changes with genotype, nitrogen fertilization, and water stress. *Agronomy Journal*, 100, 414-420.
- Saint Pierre, C., Peterson, C. J., Ross, A. S., Ohm, J. B., Verhoeven, M. C., Larson, M., & Hofer, B. (2008b). Winter wheat genotypes under different levels of nitrogen and water stress: Changes in grain protein composition. *Journal of Cereal Science*, 47, 407-416.
- Salvagiotti, F., & Miralles, D. J. (2008). Radiation interception, biomass production and grain yield as affected by the interaction of nitrogen and sulfur fertilization in wheat. *European Journal of Agronomy*, 28, 282-290.
- Salvagiotti, F., Castellarin, J. M., Miralles, D. J., & Pedrol, H. M. (2009). Sulfur fertilization improves nitrogen use efficiency in wheat by increasing nitrogen uptake. *Field Crops Research*, 113, 170-177.
- Sanchez-Garcia, M., Álvaro, F., Peremarti, A., Martín-Sánchez, J. A., Royo, C. (2015) Changes in bread-making quality attributes of bread wheat varieties cultivated in Spain during the 20th century. *European Journal of Agronomy* 63, 79-88.
- Sapirstein, H. D., & Fu, B. X. (1998). Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationships to breadmaking quality. *Cereal Chemistry*, 75, 500-507.
- Saunders, H., & Humphries, S. (1928). The Saunders Test. *Journal of the National Institute of Agricultural Botany*, 2, 34.
- Savin, R. (2010). Estrés térmico y calidad en cereales de invierno. En *Avances en Ecofisiología de Cultivos de Granos*, Editorial FAUBA. Buenos Aires, Argentina. 201-210.
- SENASA. (2004). Norma de Calidad para Comercialización de Trigo Pan-Norma XX Trigo Pan, Res. 1262/2004. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina.
- Shan, X., Clayshulte, S. R., Haley, S. D., & Byrne, P. F. (2007). Variation for glutenin and waxy alleles in the US hard winter wheat germplasm. *Journal of Cereal Science*, 45(2), 199-208.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., & Tatham, A. S. (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15, 105-120.
- Shewry, P. R., Popineau, Y., Lafandra, D., & Belton, P. (2000). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science & Technology*, 11(12), 433-441.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., Tatham, A. S., Popineau, Y., Lafandra, D., & Belton, P. S. (2003). The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role

- in determining wheat processing properties. *Advances in Food and Nutrition Research*, 45, 219-302.
- Shewry, P. R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science*, 46, 239-250.
- Shewry, P. R., D'Ovidio, R., Lafiandra, D., Jenkins, J. A., Mills, E. N. C., Békés, F., & Khan, K. (2009). Wheat grain proteins. In *Wheat: chemistry and technology*. Ed. 4. 223-298.
- Shewry, P. R. (2011). Effects of nitrogen and sulphur nutrition on grain composition and properties of wheat and related cereals (chapter 6). In *The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops, first edition*. Hawkesford, M. J., & Barraclough, P. (eds), John Wiley & Sons Inc. 103-120.
- Singh, N. K., Shepherd, K. W., Gupta, R. B., Moss, H. J., & Mac-Ritchie, F. (1990). Proportion of glutenin in the total flour protein as a measure of dough strength. In: *Gluten Proteins*. Proc. 4th International Workshop on Glutenin Proteins. Bushuk, W., & Tkachuk, R. (eds), St. Paul, MN: Amer. Assoc. Cereal Chem. 129-144.
- Simmonds, D.H. (1989). *Wheat and wheat quality in Australia*. CSIRO, Melbourne. 299 p.
- Slafer, G. A., Kantolic, A. G., Appendino, M. L., Miralles, D. J. & Savin, R. (2009). Chapter 12 - Crop Development: Genetic Control, Environmental Modulation and Relevance for Genetic Improvement of Crop Yield, In *Crop Physiology*. Sadras V. and Calderini D. (eds), Academic Press, San Diego. 277-308.
- Sreeramulu, G., & Singh, N. K. (1997). Genetic and biochemical characterization of novel low molecular weight glutenin subunits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome*, 40, 41-48.
- Stebbins, G. L. (1956). Taxonomy and the evolution of genera, with special reference to the family Gramineae. *Evolution*, 235-245.
- Steinbach, H. S., & Álvarez, R. (2014) Eficiencia de respuesta de trigo, maíz y soja a la fertilización azufrada en la region pampeana argentina. *IPNI, IAH 13*, marzo 2014. 11-17.
- Sun, X., Hu, S., Liu, X., Qian, W., Hao, S., Zhang, A., & Wang, D. (2006). Characterization of the HMW glutenin subunits from *Aegilops searsii* and identification of a novel variant HMW glutenin subunit. *Theoretical and Applied Genetics*, 113, 631-641.
- Sun, Y., Pu, Z., Dai, S., Pu, X., Liu, D., Wu, B., Lan, X., Wei, Y., Zheng, Y., & Yan, Z. (2014). Characterization of y-type high-molecular-weight glutenins in tetraploid species of *Leymus*. *Development Genes and Evolution*, 224(1), 57-64.
- Tabe, L., Hagan, N., & Higgins, T. J. V. (2002). Plasticity of seed protein composition in response to nitrogen and sulfur availability. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 212-217.
- Tatham, A. S., Mifflin, B. J., & Shewry, P. R. (1985). The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: relationship to gluten elasticity. *Cereal Chemistry*, 62, 405-412.
- Tea, I., Genter, T., Violleau, F., & Kleiber, D. (2005). Changes in the glutathione thiol-disulfide status in wheat grain by foliar sulphur fertilization: consequences for the rheological properties of dough. *Journal of Cereal Science*, 41(3), 305-315.
- Tecnoagro. (2015). Fertilización de cultivos de invierno, Campaña 2015/2016. Tecnoagro Informa, Boletín No. 72.  
<http://www.tecnoagro.com.ar/boletines-de-invierno/bt72-2015.pdf>  
 (13/6/16)

Tecnologiaslimpias.org.

[http://www.tecnologiaslimpias.org/html/central/311601/311601\\_mp.htm](http://www.tecnologiaslimpias.org/html/central/311601/311601_mp.htm)  
(19/3/16)

- Thomason, W. E., Phillips, S. B., Pridgen, T. H., Kenner, J. C., Griffey, C. A., Beahm, B. R., & Seabourn, B. W. (2007). Managing nitrogen and sulfur fertilization for improved bread wheat quality in humid environments. *Cereal Chemistry*, 84(5), 450-462.
- Timsina, J., Singh, U., Badaruddin, M., Meisner, C., & Amin, M. R. (2001). Cultivar, nitrogen, and water effects on productivity, and nitrogen-use efficiency and balance for rice–wheat sequences of Bangladesh. *Field Crops Research*, 72(2), 143-161.
- Torres Duggan, M., Rodriguez, M. B., Lavado, R. S., & Melgar, R. (2010). Eficiencia agronómica del azufre elemental relativa a una fuente azufrada soluble en trigo en la Región Pampeana. *Ciencia del suelo*, 28, 67-77.
- Torres Duggan, M. (2011). Fuentes azufradas en cultivos de grano de la Región Pampeana. *Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires*, Área Ciencias del Suelo. 96 pp.
- Torres Duggan, M., & Rodríguez, M. B. (2014). Fertilización azufrada en la Argentina: ¿Qué conocemos y qué falta por conocer?. *XXIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, II Reunión Nacional "Materia Orgánica y Sustancias Húmicas"*, Bahía Blanca, Argentina. 6 pp.
- Triboi, E., Abad, A., Michelena, A., Lloveras, J., Ollier, J. L., & Daniel, C. (2000). Environmental effects on the quality of two wheat genotypes: 1. Quantitative and qualitative variation of storage proteins. *European Journal of Agronomy*, 13, 47-64.
- Triboi, E., & Triboi-Blondel, A. M. (2002). Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem—invited paper. *European Journal of Agronomy*, 16, 163-186.
- Vázquez, D., Berger, A. G., Cuniberti, M., Bainotti, C., de Miranda, M. Z., Scheeren, P. L., & Peña, R. J. (2012). Influence of cultivar and environment on quality of Latin American wheats. *Journal of Cereal Science*, 56, 196-203.
- Wieser, H., & Seilmeier, W. (1998). The influence of nitrogen fertilisation on quantities and proportions of different protein types in wheat flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(1), 49-55.
- Wieser, H. (2000). Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. *European Food Research and Technology*, 211(4), 262-268.
- Wieser H., Gutser R. y von Tucher S. (2004). Influence of sulphur fertilisation on quantities and proportions of gluten protein types in wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 40, 239-244.
- Wieser, H., Koehler, P., Folck, A., Becker, D., Lookhart, G. L., & Ng, P. K. W. (2006). Characterization of wheat with strongly reduced  $\alpha$ -gliadin content. In *9th Annual Gluten Workshop*. 14-16 September, 2006, San Fransisco, California, USA. American Association of Cereal Chemists, Inc (AACC). 13-16.
- Withers P. J. A., Tytherleigh A. R. J. y O'Donnell F. M. (1995). Effect of sulphur fertilizers on the grain yield and sulphur content of cereals. *The Journal of Agricultural Science*, 125, 317-324.
- Wooding, A. R., Kavale, S., MacRitchie, F., Stoddard, F. L., & Wallace, A. (2000a). Effects of nitrogen and sulfur fertilizer on protein composition, mixing

- requirements, and dough strength of four wheat cultivars. *Cereal Chemistry*, 77, 798-807.
- Wooding, A. R., Kavale, S., Wilson, A. J., & Stoddard, F. L. (2000b). Effects of nitrogen and sulfur fertilization on commercial-scale wheat quality and mixing requirements. *Cereal Chemistry*, 77, 791-797.
- Wrigley, C. W., DuCross, D. L., Fullington, J. G., & Kasarda, D.D. (1984). Changes in polypeptide composition and quality due to S deficiency in wheat. *Journal of Cereal Science*, 2, 15-24.
- Wrigley, C. W., Blumenthal, C., Gras, P. W., & Barlow, E. W. R. (1994). Temperature variation during grain filling and changes in wheat-grain quality. *Functional Plant Biology*, 21, 875-885.
- Yamazaki, W. T. (1953). An alkaline water retention capacity test for the evaluation of cookie baking potentialities of soft winter wheat flours. *Cereal Chemistry*, 30, 121-246.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14(6), 415-421.
- Zhao F.J., Salmont S.E.; Withers P.J.A., Monaghan J.M., Evans E.J., Shewry P.R., McGrath S.P. (1999). Variation in the breadmaking quality and rheological properties of wheat in relation to sulphur nutrition under field conditions. *Journal of Cereal Science*, 30, 19-31.
- Zhu, J., Khan, K., Huang, S., & O'Brien, L. (1999). Allelic Variation at Glu-D1 Locus for High Molecular Weight (HMW) Glutenin Subunits: Quantification by Multistacking SDS-PAGE of Wheat Grown Under Nitrogen Fertilization 1. *Cereal Chemistry*, 76, 915-919.
- Zohary, D., Hopf, M., & Weiss, E. (2012). *Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin*. Oxford University Press.
- Zörb, C., Steinfurth, D., Simone, S., Langenkämper, G., Koehler, P., Wieser, H., Lindhauer M. G., & Mühling, K. H. (2009). Quantitative protein composition and baking quality of winter wheat as affected by late sulphur fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3877-3885.